

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

224
N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Le Docteur **Henri JOUY**

Né à Limoges, le 19 Juillet 1905

**La Culture du Bacille de Koch
sur les milieux à l'Œuf
(MÉTHODE DE LÖWENSTEIN)**

Travail du laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Boucicaut

(Laboratoire de Secteur des Hôpitaux de Paris)

Président : M. FERNAND BEZANÇON, professeur

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, Place de l'Odéon, 8

1934

129

**LA CULTURE DU BACILLE DE KOCH
SUR LES MILIEUX A L'ŒUF
(MÉTHODE DE LÖWENSTEIN)**

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1934

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

PAR

Le Docteur Henri JOUY

Né à Limoges, le 19 Juillet 1905

**La Culture du Bacille de Koch
sur les milieux à l'Œuf
(MÉTHODE DE LÖWENSTEIN)**

Travail du laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Boucicaut

(Laboratoire de Secteur des Hôpitaux de Paris)

Président : M. FERNAND BEZANÇON, professeur

PARIS

G. DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, Place de l'Odéon, 8

1934



Le Doyen..... G. ROUSSY.

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie.	ROUVIÈRE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale.	PROUST.
Physiologie.	Léon BINET.
Physique médicale.	STROHL.
Chimie médicale.	DESGREZ.
Bactériologie.	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.	BAUDOUIN.
Pathologie médicale.	CLERC.
Pathologie chirurgicale.	CHEVASSU.
Anatomie pathologique.	ROUSSY.
Histologie.	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.	TIFFENEAU.
Thérapeutique.	LOEFER.
Hygiène et médecine préventive.	TANON.
Médecine légale.	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée.	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	Maurice VILLARET.
Clinique médicale.	ACHARD.
	BEZANÇON.
	CARNOT.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants.	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale.	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique.	TERRIEN.
Clinique urologique.	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements.	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale.	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique.	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose.	Léon BERNARD.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte.	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire.	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE Neurologie et Psychiâtrie
BÉNARD (Henri) Pathologie médicale.
BERNARD (Etienne) Pathologie médicale
BOULIN..... Pathologie médicale.
BROCQ..... Pathologie chirurgicale.
BULLIARD.... Histologie.
CATHALA..... Pathologie médical
CHABROL..... Pathologie médicale.
CHEVALLIER.. Pathologie médicale.
DOGNON..... Physique.
DONZELOT.... Pathologie médicale.
FEY..... Urologie.
GALLIARD.... Parasitologie.
GASTINEL.... Bactériologie.
GATELLIER... Pathologie chirurgicale.
DE GAUDART-D'ALLAINES Pathologie
chirurgicale.
GAYET..... Physiologie.
GIROUD..... Histologie.
HAGUENAU... Pathologie médicale.
HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.
HAZARD..... Pharmacologie.
HUGUENIN.... Anatomie pathologique.
JOANNON..... Hygiène.
LABBÉ (Henri) Chimie biologique.
LACOMME.... Obstétrique.
LANTUÉJOUL. Obstétrique.

MM.

LAROCHE (Guy) Pathologie médicale.
LEMAIRE..... Pathologie expérimentale
LEVEUF..... Pathologie chirurgicale.
M^{lle} J. LÉVY... Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI. Neurologie et Psychiâtrie
MOREAU.... Pathologie médicale.
MOULONGUET. Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN..... Pathologie médicale.
OBERLING.... Anatomie pathologique.
PETIT-DUTAILLIS Pathologie chirurgica-
le.
PIÉDELIÈVRE. Médecine légale.
PORTES..... Obstétrique.
QUÉNU..... Pathologie chirurgicale.
RICHET..... Physiologie.
SANNIÉ..... Chimie biologique.
SÈNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
SÉZARY..... Dermatologie et syphili-
graphie.
TROISIER.... Pathologie expérimentale
TURFIN..... Pathologie médicale.
VALLERY-RADOT (Pasteur) Pathologie
médicale.
VELTER..... Ophtalmologie.
VIGNES..... Obstétrique.
WILMOTH.... Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE..... Pathologie chirurgicale.
BUSQUET..... Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

ZIMMERN..... Anatomie pathologique.
NEVEU-LEMAIRE, Parasitologie.
LEROUX..... Physique.

IV.— AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
ABRAMI.....	} Clinique médicale.	GUÉNIOT.....	} Clinique obstétricale.
CHIRAY.....		LE LORIER....	
DUVOIR.....		LÉVY-SOLAL...	
BASSET.....	} Clinique chirurgicale.	METZGER.....	
HEITZ-BOYER..			
MOCQUOT.....			
SCHWARTZ....			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé....	Education physique.
FREY.....	Stomatologie.
LEDoux-LEBARD.....	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ.....	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ou improbation.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

*Bien faible témoignage de ma reconnaissance
et de ma très grande affection.*

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR FERNAND BEZANÇON

Professeur de clinique médicale à la Faculté de médecine de Paris
Membre de l'Académie de médecine
Commandeur de la Légion d'honneur

Qui a bien voulu me faire l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR ANDRÉ BERGERON

Chef du laboratoire de secteur de l'Hôpital Boucicaut
Chevalier de la Légion d'honneur

*Qui n'a cessé d'être pour moi le plus bien-
veillant des maîtres et m'a guidé de façon si
affectueuse. Témoignage de mon respectueux
attachement et de ma profonde reconnaissance.*

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. DEVAUX

Professeur de bactériologie à l'Ecole de médecine de Limoges
Médecin de l'Hôpital

*Qui m'a initié à la bactériologie et m'a appris
à l'aimer. Hommage de ma respectueuse affec-
tion et de mon fidèle attachement.*

A MES MAÎTRES DE L'HÔPITAL ET DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
DE LIMOGES

MONSIEUR LE DOCTEUR THOUVENET

Professeur de clinique médicale

MONSIEUR LE DOCTEUR J. DE LEOBARDY

Professeur à l'École de médecine
Médecin de l'Hôpital

MONSIEUR LE DOCTEUR TH. GARRAUD

Professeur à l'École de Médecine

MONSIEUR LE DOCTEUR DONNET

Chirurgien de l'Hôpital

*Hommage de respectueuse reconnaissance
pour leur précieux enseignement et pour la
grande bienveillance qu'ils m'ont toujours
témoignée.*

A MES MAÎTRES DES HÔPITAUX DE PARIS

MONSIEUR LE DOCTEUR DUJARIER

Chirurgien des Hôpitaux

In mémoriam.

MONSIEUR LE DOCTEUR P. CARRIE

Médecin des Hôpitaux

MONSIEUR LE DOCTEUR LÉCHELLE

Médecin de l'Hôpital TENON

MONSIEUR LE PROFESSEUR V. LE LORIER

Accoucheur des Hôpitaux

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. GUILLAIN

Médecin de la Salpêtrière

*Témoignage de respectueux dévouement et de
profonde reconnaissance pour la formation
médicale qu'ils m'ont donnée.*

A MADEMOISELLE B. F. MÉZIÈRE

Hommage de ma profonde gratitude.

A MES AMIS :

F. AVEROIN ET J. LAVAGNE

Internes des Hôpitaux de Paris

En toute cordialité.

LES DOCTEURS C. AUMASSON, G. MARGOUT, J. GOLSE

*En souvenir des meilleurs moments de notre
vie commune d'étudiants.*

LA CULTURE DU BACILLE DE KOCH

SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

INTRODUCTION

Avant de porter le diagnostic de Tuberculose, le médecin ne saurait s'entourer de trop de garanties. Car affirmer qu'un malade est tuberculeux, c'est lui appliquer une marque qu'il conservera toute sa vie et qui ne pourra jamais s'effacer complètement même si ce premier diagnostic est erroné.

Aussi, après avoir épuisé toutes les ressources de la clinique, et tous les secours de la radiologie, il reste encore au médecin les examens de laboratoire : la mise en évidence du bacille de Koch soit dans les expectorations, les exsudats, le pus, est la signature de la maladie.

Or, pour déceler le bacille tuberculeux, le laboratoire ne nous offre que deux techniques : la recherche directe sur lames et l'inoculation à l'animal. La recherche directe ou après homogénéisation — il semble toutefois que l'on préfère les examens répétés

à l'enrichissement — se montrait très souvent infidèle. Dans les exsudats séreux ou séro fibrineux de la plèvre par exemple, cette recherche échoue presque toujours.

L'inoculation au cobaye restait la méthode de choix. Mais, outre que cette méthode est coûteuse, elle est toujours très longue. Les résultats qu'elle fournit, incomparablement supérieurs à la recherche directe, sont aussi très inconstants.

La méthode de culture du bacille de Koch sur les milieux à l'œuf marque une étape décisive dans la bactériologie de la Tuberculose. Bien que d'apparition toute récente, son usage répandu dans tous les laboratoires confirme son incontestable valeur.

Jusqu'à ces dernières années, la culture du bacille de Koch était considérée comme très difficile. Sans parler des milieux pauvres tels que la gélose ou le bouillon simple qui ne lui conviennent pas, les milieux spéciaux et parmi ceux-ci les plus favorables, la pomme de terre glycinée, le milieu de Pétroff, conduisaient le plus souvent à des échecs.

Les milieux à l'œuf se montrent, par contre, beaucoup plus sensibles ; ils peuvent supporter avec avantage la comparaison avec l'inoculation ; bien mieux, ils lui paraissent supérieurs et par le nombre de résultats positifs et par la rapidité de l'apparition des colonies.

Cette méthode de culture porte le nom de méthode de Loewenstein. Ce n'est pas que celui-ci ait le premier imaginé d'introduire l'œuf de poule dans un milieu nutritif : l'idée en revient à Capaldi. Mais les milieux de Capaldi, de Dorset, de Besredka, etc..., donnaient des résultats peu encourageants.

D'autre part, il convenait de mettre au point une technique permettant d'assurer la destruction de la flore

microbienne associée avant d'ensemencer les produits pathologiques. C'est le mérite de Loewenstein d'avoir réalisé une méthode qui comporte un traitement préalable du matériel à examiner et l'ensemencement sur un milieu nouveau particulièrement spécifique.

La méthode de Loewenstein a subi de nombreuses modifications : à l'acide sulfurique qu'il recommande pour l'élimination des germes banaux, la plupart des bactériologistes préfèrent maintenant le traitement par l'acide suivi d'une neutralisation par la soude tel qu'il a été préconisé par M. Bergeron.

Son premier milieu nutritif a été amélioré à différentes reprises par Loewenstein lui-même ; de nombreux auteurs également ont communiqué les formules de différents milieux que l'usage a révélés excellents.

Ainsi, la culture du bacille de Koch est devenue facile : qu'il s'agisse des humeurs ou des produits pathologiques, ou même du sang, l'ensemencement sur les milieux à l'œuf constitue la méthode la plus simple et aussi la plus sûre.

Au cours de ce travail, nous envisagerons d'abord, après une brève historique de la question, la valeur des principaux milieux actuellement utilisés. Nous donnerons le détail de préparation de ceux qui nous paraissent les plus recommandables.

Nous étudierons ensuite la culture du bacille de Koch à partir des crachats, des épanchements de la plèvre, des urines, etc... Au sujet de chacun d'eux, nous décrirons les techniques, parfois personnelles, qui se sont montrées les meilleures au cours de nos nombreuses expériences. Nous décrirons quelques-unes de ces expériences, la plupart réalisées au laboratoire de l'Hôpital Boucicaut et nous y joindrons l'observation

clinique correspondante toutes les fois qu'elle nous semblera de nature à faciliter l'interprétation des résultats. L'exposé de ces recherches nous permettra de mettre une fois de plus en relief la simplicité de la culture du bacille de Koch sur les milieux à l'œuf, sa rapidité et sa supériorité non seulement sur les milieux autrefois utilisés, mais aussi sur l'inoculation au cobaye.

C'est bien la culture du sang qui mérite le mieux le titre de méthode de Loewenstein. En effet, c'est lui qui a mis au point cette hémoculture et la technique très précise qu'il a divulguée est le fruit d'innombrables expériences.

Nul ne saurait contester que l'on doit au professeur viennois à peu près tout ce que l'on connaît actuellement au sujet de la bacillémie tuberculeuse. Mais ses résultats et peut-être encore plus ses interprétations sont loin d'être admis par tous.

Nous n'avons pas une expérience suffisante de l'Hémoculture pour apporter dans un débat aussi passionné des conclusions personnelles.

Nous nous sommes permis de confronter les statistiques de Loewenstein et celles des chercheurs étrangers : tout de suite nous est apparue la divergence profonde qui les sépare. Nous avons essayé de percer le mystère de tant de contradictions, avouons sans détour que nous n'y sommes pas parvenu.

Au seuil de ce travail, qu'il nous soit permis d'adresser tout d'abord à notre Maître, M. le docteur Bergeron, nos bien vifs sentiments de gratitude. Nous n'oublierons pas la grande bienveillance avec laquelle il nous a accueilli dans son laboratoire et de quels précieux enseignements il nous a fait bénéficier. Après

nous avoir inspiré le sujet de cette étude, il nous l'a rendue facile en ne nous ménageant ni son temps ni ses conseils, fruits de sa longue expérience clinique et bactériologique.

Nous sommes également très reconnaissant à M^{lle} B.-F. Mézière dont la collaboration fut particulièrement efficace. Il nous est agréable de reconnaître la grande part qui lui revient dans les recherches que nous aurons l'occasion de décrire.

LES MILIEUX A L'ŒUF

En 1884, deux ans après la découverte du Bacille de la Tuberculose, Robert Koch qui cherchait avec une laborieuse persévérance le moyen de cultiver le bacille qu'il avait découvert parvint enfin au résultat si longuement poursuivi : ayant broyé des tubercules ramollis, il les sema sur un milieu constitué par du sérum coagulé de bœuf et de mouton stérilisé par l'indallisation à 68° et fut assez heureux pour voir apparaître au bout de douze à quinze jours des colonies petites et écailleuses qui se montrèrent repiquables et virulentes pour le cobaye.

Mais ce milieu qui donnait des résultats positifs — d'ailleurs irrégulièrement — avec un ensemencement aussi riche en bacilles que des tubercules, ne pouvait convenir à la culture de produits pathologiques. Force était donc de procéder en deux temps : d'abord inoculation du produit suspect au cobaye, puis repiquage des ganglions préalablement broyés. D'autre part, les essais de culture sur les milieux pauvres tels que la gélatine, la gélose et le bouillon simple n'avaient abouti qu'à des échecs.

En 1887, trois ans après la première culture obtenue par R. Koch, Nocard et Roux, dans un important mémoire publié dans les Annales de l'Institut Pasteur, préconisent l'emploi de la glycérine dans les milieux

de culture. Ce fut une véritable découverte, féconde en résultats : ajoutée en proportions convenables, la glycérine transforme des milieux pauvres tels que le bouillon, la gélose, le sérum en milieux extrêmement favorables au développement du bacille tuberculeux.

Un an plus tard, A. Pawlowsky, également de l'Institut Pasteur, mettait au point la culture du Bacille de Koch sur pomme de terre glycélinée en tube de Roux, encore en usage dans tous les laboratoires.

Ces milieux à la glycérine, qui constituaient un immense progrès pour l'étude du Bacille de Koch, excellents certes pour les repiquages de souches des bacilles se montraient moins convenables pour la culture du bacille à partir des produits pathologiques.

De là, la floraison vraiment extraordinaire des milieux de culture en vue de l'isolement du Bacille de Koch : milieux liquides parmi lesquels l'usage a consacré ceux de Sauton, de Calmette, Massol et Breton, plus récemment celui de Buc et Bezançon ; milieux solides où l'on rencontre à côté de la pomme de terre, les pulpes d'organes, la bile, la lécithine, l'œuf, etc.

Mais parmi tous ces milieux proposés — qui, soit dit en passant, renferment à peu près tous de la glycérine — les milieux à base d'œuf ont acquis une place prépondérante qui n'a cessé de s'affirmer au cours de ces dernières années.

C'est à Capaldi que revient le mérite d'avoir introduit en 1896 l'emploi de l'œuf de poule pour la culture du bacille de Koch. Mais son usage n'est devenu vraiment pratique que depuis la modification de Dorset qui l'utilisa en solution dans un sérum physiologique à 10 pour cent. Plus tard Lubenaü perfectionna cette technique en ajoutant par œuf 30 pour cent de son poids de macération de viande glycélinée à 5 pour cent.

A peu près en même temps que Dorset, Bezançon et Philibert mirent au point un milieu particulièrement sensible qui fournissait d'excellents résultats.

Besredka donna plus tard la formule nouvelle d'un milieu très employé surtout pour la culture de l'anti-gène.

En 1915, Pétroff publie son procédé bien connu d'isolement du bacille de Koch à partir des produits infectés secondairement. Encore que sa technique soit à peu près complètement délaissée de nos jours, il est juste de remarquer que Pétroff fit œuvre de précurseur en nous enseignant le traitement par la soude des produits infectés et en introduisant dans son milieu un colorant antiseptique. L'usage de ce colorant — le violet de gentiane dans le cas particulier — a été reconnu comme de la plus haute importance et tous les auteurs qui, par la suite, ont mis au point des milieux à base d'œuf n'ont eu garde de l'oublier. Mais la technique de Pétroff qui marquait une étape décisive dans la culture du bacille de Koch était trop délicate encore pour être d'application courante dans les laboratoires.

L'apparition de l'acide sulfurique, permettant d'assurer avec avantage la destruction de la flore microbienne associée, fit suite aux travaux de Bossan et Baudy. Loewenstein étudia son action et le fit entrer dans la pratique. Mais l'ensemencement était ensuite effectué indifféremment sur pomme de terre glycinée, ou sur milieu de Pétroff jugé à peine plus sensible.

Avec Petragnani, on connut enfin en 1928 un milieu nouveau, à base d'œuf, de peptone et de vert malachite, qui se révéla très favorable pour le bacille tuberculeux. Puis, à quelques années d'intervalle, en 1931, Loewenstein divulgue la composition de son premier milieu à base d'œuf, d'asparagine et de rouge

congo ou de vert malachite. C'est alors l'essor prodigieux que prend la culture du bacille de Koch : d'une part la culture de ce bacille à partir des produits pathologiques est devenue facile et sa valeur sanctionnée par son emploi dans tous les laboratoires ; d'autre part, il est désormais possible de mettre en évidence des bacilles dans le sang circulant et c'est un champ de recherches immense ouvert sur la pathogénie de nombreuses maladies.

Le nom de Lœwenstein est intimement lié aux progrès dont vient de bénéficier la bactériologie du bacille de Koch. Ses publications ont été le point de départ de travaux fertiles en résultats auxquels se sont livrés les chercheurs de tous les pays.

Lœwenstein lui-même a amélioré sans cesse son milieu, sa technique, qu'il a réglée dans tous ses détails. Après lui, de nombreux auteurs ont pu apporter des modifications parfois heureuses à sa méthode, et nous possédons actuellement des milieux à l'œuf excellents. Il nous suffira de citer ceux de Lœwenstein, de Petraghani, original ou modifié, de Hohn et celui très récent de M. Bergeron qui nous a toujours donné d'excellents résultats.

PRÉPARATION DES PRINCIPAUX MILIEUX A L'ŒUF

MILIEU DE LÖEWENSTEIN (1932)

1° Nettoyage des œufs.

On met des œufs d'abord dans une mixture composée de 5 pour cent de savon mou et de 5 pour cent de lessive de soude chaude (à moins de 70°, afin de ne pas coaguler le blanc d'œuf) pendant une demi-heure. Puis on les lave à l'eau courante ; puis, pendant vingt minutes, dans une solution de sublimé à 1 pour cent, et enfin on les lave à nouveau à l'eau courante (cette dernière fois assez longtemps).

Cette opération a pour but de les rendre bactériologiquement propres.

2° Préparation de la solution.

Phosphate mono-potassique (monocacide).....	1 gr.
Citrate de soude.....	1 gr.
Sulfate de magnésium.....	1 gr.
Asparagine.	3 gr.
Glycérine.	60 gr.
Eau distillée.....	1.000 gr.

Cette solution portée deux heures à 100° se conserve sans s'altérer.

3° Préparation du milieu proprement dit.

A 150 centimètres cubes de cette solution d'asparagine, on ajoute 6 grammes de fécule de pomme de terre et 12 centimètres cubes de glycérine.

On fait bouillir en agitant souvent pendant un quart d'heure, puis on laisse le tout à 56° pendant une heure jusqu'à formation de dextrine (on doit obtenir un milieu homogène fluide). On y ajoute quatre œufs préparés comme il est dit plus haut, puis un jaune d'œuf supplémentaire ; on verse dans le mélange des perles de verre et on agite vigoureusement ; puis on ajoute 5 centimètres cubes d'une solution stérile à 2 pour cent de rouge congo ou de vert malachite. (Pour la préparation en gros, il faut 20 œufs pour 600 centimètres cubes de solution d'asparagine.)

Ensuite on filtre à travers de la gaze stérile et on distribue environ 5 à 6 centimètres cubes par tube. On pasteurise deux fois à deux jours d'intervalle, à 80-85° pendant deux heures chaque fois.

Il faut contrôler la stérilité des tubes ainsi préparés, de la façon suivante : mettre à l'étuve pendant une nuit après la deuxième pasteurisation, et constater qu'il n'ait rien poussé.

(L'auteur insiste sur le fait que la présence d'asparagine dans ce milieu est de la plus haute importance.)

4° Détails de technique :

A la suite des nombreux échecs auxquels a donné lieu la culture du sang entre les mains de nombreux chercheurs, Lœwenstein, en mars 1932, signale que les fautes peuvent être imputables en partie à la préparation du milieu : il insiste sur la nécessité de la stérilisation par un courant de vapeur au voisinage de 80°,

alors que bien souvent cette stérilisation est obtenue par voie sèche.

MILIEU DE LÖEWENSTEIN (1933)

Tout d'abord, on prend une solution de :

Phosphate mono-potassique $P O^4 H K^2$	} 1 %
Sulfate de magnésium.....	
Citrate de magnésium.....	
Asparagine.	3 %
Glycérine.	3 %

A 600 centimètres cube de cette solution, on ajoute :

- 10 cc. d'une solution soigneusement stérilisée de sucre de pomme de terre à 50 %.
- 10 cc. de jus de tomates.

A cette solution stérile, on ajoute :

- 16 œufs entiers et 4 jaunes d'œuf,
- puis 20 cc. d'une solution stérilisée à l'autoclave de rouge congo à 2 %.

On filtre à travers une gaze, on stérilise à la vapeur à 80° pendant deux jours consécutifs.

On contrôle la stérilité par un séjour de 48 heures à l'étuve.

Les milieux de culture doivent toujours être frais.

MILIEU DE HOHN

Trois œufs frais sont soigneusement nettoyés en frottant les extrémités à l'alcool.

Les extrémités des œufs sont perforées avec une

pointe stérile préalablement nettoyée par frottage avec un tampon alcoolisé.

Le contenu des œufs est réparti dans une fiole stérile dont le fond est recouvert de perles de verre stérilisées, de la grosseur d'un petit pois. On tourne avec soin le matras pendant 3 à 4 minutes en lui imprimant de douces secousses. Ensuite le contenu est mesuré dans un verre gradué stérile et on ajoute le tiers du volume de bouillon glyciné à 5 pour cent ; le mélange est versé dans un matras d'Erlenmeyer.

5 à 6 centimètres cubes sont introduits dans un tube à essai stérile, chauffé à 84°, puis peu à peu à 87°. Il convient de ne pas dépasser cette température et de la maintenir pendant 15 minutes.

A chaque tube on ajoute 0,8 centimètres cubes de bouillon stérile non glyciné et on bouche au coton.

Essayer la stérilité par 24 heures d'étuve à 37° et garder à la glacière.

MILIEU DE PETRAGNANI

Milieu de culture à base de lait et d'œuf pour le bacille de Koch.

Dans un ballon d'un litre, on introduit 150 centimètres cubes de lait de vache, 6 grammes de fécule de pomme de terre, 1 gramme de peptone et des fragments d'une pomme de terre grosse comme un œuf (1). On porte le tout à l'ébullition en agitant sans arrêt. Il se forme une pâte que l'on continue à remuer pendant une heure environ.

(1) Les fragments de pomme de terre ont pour but de permettre une agitation méthodique et ne jouent qu'un rôle mécanique analogue à celui des perles de verre.

Quand la température est descendue aux environs de 60°, on ajoute le contenu de quatre œufs entiers et le jaune d'un cinquième. On agite pour homogénéiser d'ensemble, puis on passe à travers une gaze stérile. Il ne reste plus qu'à ajouter 12 centimètres cubes de glycérine neutre et 10 à 12 centimètres cubes de vert malachite en solution à 2 pour cent dans l'eau distillée.

Le tout est porté à 85° pendant 25 minutes.

MILIEU DE PETRAGNANI MODIFIÉ PAR SAENZ ET COSTIL

On fait dissoudre 1 gr. 25 d'asparagine dans un vase d'Erlenmeyer de un litre où l'on a préalablement versé 200 grammes de lait frais de vache et 8 grammes de fécule de pomme de terre (marque Vosguès). On chauffe au bain-marie jusqu'à l'ébullition pendant une heure et, pour le reste, on suit exactement la technique indiquée par Petragnani.

MILIEU DE BERGERON

Délayer dans un mortier, que l'on a flambé au préalable, 3 grammes de fécule de pomme de terre avec 60 centimètres cubes de la solution asparagine, glycérine... (formule de Loewenstein.) Verser dans un ballon et faire bouillir un quart d'heure ; puis laisser une heure au bain-marie à 55 degrés.

Introduire le contenu de deux œufs entiers dans une fiole à trompe à vide, et après avoir pris leur volume, ajouter une quantité égale au quart de ce volume de lait stérilisé à 120 degrés au préalable et 3 pour cent de mannite (solution à trente pour cent stérilisée.)

Ajouter la fécule de pomme de terre délayée dans la

solution d'asparagine et 6 centimètres cubes de solution aqueuse de vert malachite à 2 pour cent également stérilisée.

Remuer soigneusement et répartir dans les tubes à essai stérilisés à raison de 6 à 8 centimètres cubes par tube.

Coaguler au bain de sable pendant deux heures à 85 degrés.

Contrôler la stérilité par vingt-quatre heures d'étuve et conserver à la glacière.

VALEUR DES MILIEUX A L'ŒUF

Les milieux à l'œuf sont très favorables à l'éclosion du bacille de Koch. Ils sont particulièrement sensibles et se montrent spécifiques, à peu près comme le sérum coagulé pour la culture du bacille de Loëffler. Les colonies sont plus précoces et se développent infiniment mieux que sur les milieux autrefois utilisés.

De nombreuses expériences sont très démonstratives à cet égard. Voici tout d'abord les résultats obtenus par von Huth et Lieberthal, qui ont comparé le développement du bacille de Koch sur pomme de terre glycinée et sur milieu à l'œuf.

EXPÉRIENCES DE VON HUTH ET LIEBERTHAL

MILIEU A L'ŒUF		POMME DE TERRE GLYCÉRINÉE	
Délai d'apparition des colonies	Nombre de tubes	Délai d'apparition des colonies	Nombre de tubes
8 jours	7 tubes		
9 à 12 jours	65 tubes		
13 à 16 jours	83 tubes		
17 à 20 jours	76 tubes		
Plus de 24 jours	27 tubes	18 à 21 jours	8 tubes
		22 à 28 jours	29 tubes
		29 à 35 jours	69 tubes
		36 à 42 jours	20 tubes
		Plus de 45 jours	16 tubes

RÉSUMÉ GLOBAL SUR 300 TUBES

	Milieu à l'œuf	Pomme de terre glycinée
Tubes positifs.....	190	132
Tubes négatifs.....	93	141
Tubes contaminés.....	17	27

EXPÉRIENCES DE WINGE

Résultats de 24 examens :

	Milieux de Pétroff et Hohn	Pomme de terre glycinée
Résultats positifs	24	22
Délai d'apparition des colonies	17 jours en général	beaucoup plus tardive

EXPÉRIENCES DE LAYMON

Laymon compara les résultats obtenus en versant à la surface de différents milieux (milieu de Loewenstein, milieu de Dorset à l'œuf, milieu de Korper à la pomme de terre) une suspension de bacilles tuberculeux dans l'eau distillée stérile.

Douze jours après l'ensemencement, des colonies blanchâtres, grosses comme une tête d'épingle, apparurent, visibles à l'œil nu, sur les milieux de Lœwenstein et de Korper, et une semaine plus tard sur le milieu de Dorset.

Un mois plus tard, les colonies étaient luxuriantes sur les milieux de Lœwenstein et de Korper, plus faibles sur le milieu de Dorset. En comparant la valeur des milieux de Korper et Lœwenstein, Laymon conclut que ce milieu est beaucoup plus favorable que celui à la pomme de terre:

EXPÉRIENCE DE M. BERGERON

Ensemencement sur milieu de Lœwenstein et sur pomme de terre glycéinée de dix crachats largement bacillifères.

Résultats :

	Milieu de Lœwenstein	Pomme de terre glycéinée
Résultats positifs.....	10	2
Date d'apparition des colonies.....	11 ^e et 13 ^e jour	Du 35 ^e au 41 ^e jour

EXPÉRIENCE DE H. DURAND ET I. GASPAR

Ces auteurs, dans l'exposé d'un travail sur les propriétés acido-résistantes, nous permettent de souligner une fois de plus la très grande valeur du milieu à l'œuf.

Ils ont étudié l'évolution des bacilles tuberculeux dans les cultures sur pomme de terre abandonnées à l'étuve et décapuchonnées pendant six mois. « Au bout de ce temps le liquide a disparu, la pomme de terre est racornie, la culture forme un voile desséché sur les parois du tube et quelques écailles dures à la surface de la pomme de terre. »

L'étude de cette culture permet de mettre en évidence plusieurs sortes d'éléments :

des corps bacillaires d'apparence normale, granuleux et acido-résistants,

des bacilles cyanophiles,

des formes de transition.

Les propriétés acido-résistantes paraissent donc subir une sorte de régression sous l'influence de l'épuisement du milieu. Par repiquage des bacilles sur un milieu

neuf, Durand et Gaspar ont essayé de voir si ces propriétés pouvaient être récupérées.

« Des fragments de cette culture desséchée ont été réensemencés sur Dorset et Lœwenstein. Dix jours après le milieu de Lœwenstein a été examiné...

» Seize jours après, [vingt-huit jours après l'ensemencement], le raclage de la culture après coloration par le Ziehl ne montre plus aucun corps cyanophile : il n'y a plus que des échevaux épais de corps bacillaires agglutinés, exclusivement acido-résistants. »

Cette expérience permettait aux auteurs de démontrer que les bacilles perdaient sur les milieux pauvres leurs propriétés acido-résistantes qu'ils récupéraient sur certains milieux neufs. Elle nous permet aussi de mettre en relief la sensibilité extrême du milieu de Lœwenstein, avec lequel il est possible d'obtenir en 26 jours des bacilles acido-résistants à partir d'un ensemencement excessivement pauvre, qui n'aurait rien donné sur un autre milieu, la pomme de terre par exemple.

Une autre expérience, celle d'Hauduroy, confirme la précédente :

EXPÉRIENCE D'HAUDUROY

Hauduroy repique sur milieu de Lœwenstein des cultures sur pomme de terre glycinée âgées d'un an. « Elles avaient été conservées à l'étuve pendant ce temps. Ce sont des cultures assez abondantes.

» En dix jours, on obtient, sur le milieu de Lœwenstein, une sous-culture abondante, **normale**, composée de bacilles tuberculeux typiques. Un ensemencement témoin avait été fait sur de la pomme de terre glycinée. Aucune culture n'est apparue. »

L'expérience fut répétée avec le même succès au moyen de plusieurs souches de bacilles tuberculeux d'origine humaine et bovine.

Ces faits mettent une fois de plus en valeur la grande sensibilité du milieu de Lœwenstein. Tel est bien aussi l'avis d'Hauduroy, qui ajoute même « que le milieu de Lœwenstein pourrait remplacer dans les laboratoires les milieux de cultures habituellement employés pour la conservation des souches de bacilles de Koch. »

VALEUR COMPARÉE DES DIFFÉRENTS MILIEUX A L'ŒUF

L'exposé de ces différentes expériences nous autorise à affirmer que les milieux à l'œuf sont très supérieurs aux autres milieux autrefois employés. Cependant ces mêmes expériences nous fournissent la preuve que tous les milieux à l'œuf ne possèdent pas la même valeur. Si Winge a pu obtenir des résultats comparables sur le milieu de Pétroff et de Hohn, Laymon conclut à la supériorité du milieu de Lœwenstein sur celui de Dorset. De même, dans l'expérience de Durand et Gaspar, le repiquage des bacilles ayant perdu leurs propriétés acido-résistantes a été positif seulement sur le milieu de Lœwenstein et non sur celui de Dorset.

La valeur des milieux à l'œuf est en effet très inégale. On peut les ranger en deux groupes : ceux qui ont été utilisés depuis Capaldi jusqu'à celui de Pétroff inclusivement ; ceux qui ont fait suite aux travaux de Hohn, Petragani et de Lœwenstein.

Parmi les premiers, les plus connus sont ceux de Dorset, de Lubenaï, de Besredka, de Pétroff, de Sweany et Cranoff.

Parmi les autres, on rencontre les milieux dont le

détail de préparation a été donné : milieux de Lœwenstein, Hohn, Petraghani, Petraghani modifié, Bergeron.

Voici l'opinion de Bezançon et Braun sur le milieu de Petraghani : « D'après environ 81 cas de tout genre de culture sur le milieu de Petraghani au vert malachite, il ressort que ce milieu est un milieu très favorable pour la recherche du bacille de Koch, dans les milieux organiques, en particulier dans les crachats.

» D'emblée, il nous semble nettement supérieur au milieu de Petroff qui, cependant, constituait déjà un progrès sur les milieux antérieurement utilisés pour la culture des crachats. »

M. Bergeron dans une communication à la section d'études scientifiques de l'OEuvre de la Tuberculose parlait dans le même sens : « Nous avons donc enregistré des échecs, mais nous sommes loin, cependant, des innombrables incidents de la méthode de Petroff. »

Frieda Abt qui a utilisé les milieux de Lœwenstein et de Hohn a obtenu dans une série d'hémoculture seize résultats positifs avec le milieu de Lœwenstein et quatorze avec celui de Hohn. L'exsudat pleural cultivé dans onze cas a donné neuf réponses positives avec le premier et sept seulement avec le second.

B. Ananiadès et N. Papanargyrou ont obtenu avec le milieu de Petraghani à la peptone de meilleurs résultats qu'avec le milieu de Lœwenstein.

E. de Carvalho pense que les milieux de Lœwenstein, et de Lübenau et Dorset sont beaucoup plus sensibles que ceux de Pétroff et de Besredka-Weise. Mais nous avons noté précédemment la supériorité du milieu de Lœwenstein sur celui de Dorset.

Saenz et Costil ont fait une étude comparative des divers milieux à l'œuf pour l'isolement des bacilles tuberculeux. Pour cela, ils préparaient par dilution des

émulsions de concentrations décroissantes de bacilles humains et bovins qu'ils ensemençaient sur des tubes de culture à étudier. Ils comptaient les colonies après des temps variables en notant le début de leur apparition.

Une première série d'expériences leur a permis de noter la « supériorité incontestable » des deux milieux de Petraghani et de Lœwenstein sur tous les autres. « Sur ces deux milieux les colonies apparaissent plus rapidement et avec une bien plus grande régularité, aussi bien pour la souche humaine que pour la souche bovine ».

De plus, ils ont approfondi l'étude des milieux de Petraghani, de Lœwenstein et du milieu de Petraghani dans lequel ils conseillent de remplacer la peptone par l'asparagine. Dans ces conditions, ce milieu fournit des résultats comparables sinon supérieurs au milieu de Lœwenstein, ce dont on peut se convaincre par le tableau suivant que nous empruntons à ces auteurs :

TABLEAU II (Souche bovine Vallée)

Quantité de bacilles ensemencés, en mgr.	Nombre de colonies après 27 jours		
	Petraghani originel	Petraghani modifié	Loewenstein
0,000.1.	7	9	10
0,000.01.	2	2	2
0,000.001.	0	0	0
0,000.000.1.	54	72	67

En résumé, Saenz et Costil nous conseillent l'emploi du milieu de Pétragnani modifié de préférence au milieu de Lœwenstein.

Nous verrons au cours de ce travail que le milieu que nous propose M. Bergeron est lui aussi particulièrement sensible et que son usage ne peut être que recommandé.

CULTURE DU BACILLE DE KOCH DES CRACHATS SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

TRAITEMENT PRÉALABLE

Les crachats soumis à l'analyse sont toujours plus ou moins infectés et la flore microbienne y est souvent particulièrement abondante. Il ne saurait donc être question d'ensemencer directement un matériel aussi souillé sur les milieux à l'œuf. (Les colorants antiseptiques qu'ils renferment autorisent seulement la culture directe de produits très peu contaminés.)

D'ailleurs dès les premiers essais de culture du bacille de Koch à partir des produits pathologiques, les différents chercheurs ont imaginé divers procédés permettant la stérilisation des microbes associés tout en respectant le bacille à étudier. Leur tâche s'est trouvée grandement facilitée par la structure même du bacille tuberculeux : on sait que celui-ci renferme une cire, des graisses et des acides gras qui lui confèrent des propriétés particulières. Il peut en effet résister aux acides, aux alcalis, à l'alcool et à certains antiseptiques à condition toutefois que leur action ne soit pas prolongée outre mesure. Pour la coloration du bacille, on

utilise ses propriétés acido-alcool-résistantes ; pour l'isolement on a surtout recours à sa résistance vis-à-vis des alcalis (soude), des acides (sulfurique et chlorhydrique) et d'antiseptiques (antiformine).

Il convient de noter que les crachats doivent être finement dissociés pour permettre une action utile de l'antiseptique dans toute la masse muco-purulente. Il faut d'autre part prolonger son action suffisamment pour détruire les germes banaux, et l'arrêter assez tôt cependant, pour ne pas attaquer la vitalité du bacille tuberculeux.

L'antiformine fut préconisée en 1909 par Uhlenhuth et Kersten, puis par Stanley Griffith. Son usage est courant dans nombre de laboratoires.

Warnery qui a repris dernièrement l'étude de cette question a adopté la technique suivante :

Dans un tube à centrifuger, on mélange 1 centimètre cube de crachats et 1 centimètre cube d'antiformine à 15 pour cent ; on agite quelques instants jusqu'à homogénéisation des crachats et on laisse reposer huit à neuf minutes (durée totale du contact dix minutes). Double centrifugation pour double lavage et ensemencement du culot sur deux tubes de Lœwenstein.

L'auteur pense que l'antiformine convient parfaitement au traitement des crachats qu'elle liquéfie rapidement, mais reconnaît un obstacle à la méthode : c'est l'instabilité de l'antiformine qui commande l'emploi d'un produit très fraîchement préparé.

La soude fut recommandée en 1915 par Pétroff, en même temps qu'il faisait connaître son nouveau procédé d'isolement du bacille de Koch. A la suite d'expériences bien conduites, il s'arrêta à la concentration de 4 pour cent qui permet, avec une durée de contact convenable, d'éliminer les germes banaux.

Plus tard Martin Kristensen et K.-A. Jensen améliorèrent cette méthode : après avoir agité une partie d'expectoration avec deux ou quatre volumes de soude à 4 pour cent, ils portent le mélange à la température de 37° à 38° qu'ils maintiennent une demi-heure. Après centrifugation, et décantation de la partie surnageante, ils ajoutent au culot de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à réaction faiblement acide. Ce culot ainsi neutralisé est prêt pour l'ensemencement.

L'usage de l'acide sulfurique apparaît avec Bossan et Baudy en 1922. Ils l'utilisaient à la concentration de 10 pour cent pour le traitement des crachats.

Loewenstein et son élève Sumijoski étudient ensuite son utilisation. Le traitement préalable des crachats consistait à leur ajouter un cinquième en volume d'une solution d'acide sulfurique à 40 pour cent ; puis après centrifugation le sédiment était lavé plusieurs fois à l'eau distillée stérile, avant d'être ensemencé.

Plus tard Hohn fit de remarquables recherches à ce sujet. Il a notamment décrit en 1926 les détails de concentration de l'acide (10 à 12 pour cent pour les crachats) et la durée de contact de demi-heure qu'il convient de ne pas dépasser.

Mouriz a constaté que des concentrations de l'acide sulfurique de plus de 35 pour cent tuent les bacilles, tandis que des concentrations de 1 à 10 pour cent donnent de très bons résultats. D'après lui, l'action de l'acide serait immédiate.

Mais la méthode qui paraît le plus en faveur à l'heure actuelle est celle qui consiste à faire agir sur les crachats d'abord l'acide sulfurique dilué, puis la soude en quantité suffisante pour la neutralisation et la non alcalinisation légère.

Cette méthode mise au point depuis de nombreuses

années par M. Bergeron au laboratoire de l'hôpital Boucicaut, nous a toujours donné d'excellents résultats.

La technique utilisée est la suivante :

Un ou deux centimètres cubes de crachats sont versés dans une boîte de Pétri stérilisée, on leur ajoute huit à dix centimètres cubes d'une dilution formée de 10 grammes d'acide sulfurique ordinaire du commerce à 66° Baumé et de 90 grammes d'eau distillée stérile. On dissocie pendant quelques minutes les crachats dans le liquide acide au moyen d'un fil métallique flambé, on referme la boîte et on laisse le contact se prolonger pendant 30 à 35 minutes. La boîte est réouverte, on ajoute goutte à goutte de la lessive de soude en malaxant le mélange avec le fil métallique et en laissant de temps en temps une goutte de ce mélange tomber sur un papier rouge de tournesol. On arrête l'addition de la soude lorsque la goutte tombant sur le papier de tournesol lui donne une coloration nettement bleue. Le contenu de la boîte de Pétri est alors versé dans un tube à centrifuger stérile que l'on place pendant huit à dix minutes dans une centrifugeuse électrique à grande vitesse. Après cette centrifugation le liquide surnageant est rejeté, et au moyen d'un fil métallique flambé on prélève, dans les petites masses muco-purulentes formant le culot, une assez grosse parcelle que l'on ensemente sur un milieu à l'œuf.

VALEUR COMPARÉE DE CES DIFFÉRENTES MÉTHODES

Le procédé à l'antiformine paraît très acceptable pour les crachats puisqu'elle liquéfie rapidement même

les plus épais. Mais Warnery qui nous recommande cette méthode nous en fait en même temps le procès : l'antiformine est un corps très instable et il faut employer toujours un produit fraîchement préparé ce qui est certainement un écueil pour son emploi dans les laboratoires. D'autre part cette méthode n'est pas supérieure au traitement par l'acide sulfurique et la soude combinée qui donne un plus grand nombre de résultats positifs.

La soude est maintenant rarement utilisée seule, on lui préfère la technique de Kristensen et Jensen.

Le traitement le plus utilisé était jusqu'à ces dernières années l'acide sulfurique, d'après les indications de Lœwenstein et de Hohn. Cependant de nombreux auteurs et récemment encore F. Abt pensaient que l'emploi de cet acide fort n'était pas sans danger pour la vitalité du bacille de Koch ; mais les expériences de Hohn, Mouriz, Pulcher, de Warnery ont fait la preuve de la fausseté de cette hypothèse. A la condition d'utiliser l'acide sulfurique dans des proportions suffisantes et dans des limites de contact convenables, seule la flore secondaire est attaquée sans aucun préjudice pour le bacille à étudier.

L'emploi de l'acide sulfurique et la neutralisation par la soude a lui-même soulevé de nombreuses objections : pendant un temps plus ou moins long les bacilles sont en effet en présence d'une solution de sulfate de soude à la concentration de 11 à 12 pour cent. Cette concentration n'est-elle pas toxique pour les bacilles tuberculeux et n'empêche-t-elle pas leur développement ultérieur sur les milieux de culture ? Or Manseau avait déjà répondu par avance à cette importante question : le sulfate de soude, même à la concentration de 20 pour cent, n'a aucune action inhibitrice

sur le développement du bacille de Koch. Saenz et Saldettin sont arrivés à la même conclusion après une série d'expériences récentes.

Le traitement par l'acide sulfurique dilué et neutralisation par la soude comme l'a préconisé M. Bergeron constitue donc la méthode de choix pour le traitement des crachats et aussi des produits pathologiques comme nous le verrons par la suite. Cette méthode simple et sûre constitue un réel progrès sur les procédés antérieurs, elle est d'autre part facile à mettre en œuvre dans tous les laboratoires de clinique.

ENSEMENCEMENT

Le culot de centrifugation ayant subi le traitement préalable est prêt pour l'ensemencement. Pour cela on utilise deux tubes au moins de milieu Lœwenstein ou Bergeron.

Les tubes soigneusement capuchonnés ou fermés à la cire Golaz sont placés à l'étuve à 37°.

L'examen des tubes doit être pratiqué dès le huitième jour : tous les auteurs sont d'accord sur ce point. On procède au raclage de la surface des tubes et, après coloration au Ziehl, on recherche systématiquement les bacilles acido-alcoolo-résistants. Cette méthode permet de mettre en évidence des bacilles alors qu'aucune colonie macroscopique n'est visible. Le terme de « microculture » qui a été donné à cette recherche n'a pas été accepté par tous avec le même enthousiasme. Le professeur Débré signale que le produit de raclage des tubes est parfois constitué par des filaments de fibrine acido-alcoolo-résistants, qui peuvent simuler des bactéries. Il convient donc d'être très sévère dans l'appréciation d'une « microculture » et de ne compter comme

· bacille authentique que des formes bacillaires de morphologie bien nette.

Il n'en reste pas moins vrai que cet examen précoce permet de trouver au microscope des bacilles alors qu'aucune modification du milieu ne s'était manifestée. Le terme de microculture, assez évocatif à cet égard, nous paraît pleinement justifié ; il a été adopté d'emblée par la majorité des bactériologistes.

EXPÉRIENCES ET RÉSULTATS

Nous avons pu expérimenter au laboratoire de l'hôpital Boucicaut la valeur de la méthode décrite sur un certain nombre de malades provenant du dispensaire d'Hygiène sociale de la rue Tiphaine à Paris.

Les résultats que nous avons obtenus sont les suivants :

De novembre 1931 à fin 1933 nous avons, à titre de contrôle,ensemencé trente-cinq crachats tous bacillifères à l'examen direct ou après homogénéisation. Nous n'avons obtenu que trente-trois cultures microscopiques ou macroscopiques. Dans deux cas par conséquent, le procédé de Lœwenstein a paru moins sensible que l'examen sur lames.

Dans l'un de ces cas (M. Man...) il s'agissait d'un sujet atteint de tuberculose fibreuse paucibacillaire, traité par phrénicectomie après choc collapsothérapique et qui devait trois semaines plus tard nous donner une belle culture macroscopique apparue dès le 17^e jour après l'ensemencement. L'échec a donc été tout à fait momentané.

Dans l'autre cas (Mr Bou...), il s'agissait d'un homme présentant des lésions fibreuses de la base droite, apparues en 1931, traitées par la crisalbine et très amélio-

rées. En effet cet homme examiné radiologiquement le 18 janvier 1932, huit jours après l'ensemencement, présentait un nettoyage radiologique complet. La culture des crachats fut donc négative quoique l'examen direct préalable eût montré 1 bacille sur 150 champs. Ces bacilles devaient donc être encore assez nombreux dans les deux cc. d'expectorationsensemencés. On peut se demander si les bacilles incultivables contenus dans les crachats de cet homme en état de guérison apparente, que les mois suivants montrèrent durable, n'étaient pas déjà des bacilles morts. On ne peut l'affirmer en l'absence d'inoculation au cobaye. Mais leur vitalité devait être à tout le moins très réduite.

Dans les trente autres cas les cultures ont été positives. Le délai d'apparition de ces cultures a varié de cinq à quarante jours, la durée moyenne étant de quatorze jours. Vingt-neuf fois les cultures d'abord inapparentes sont devenues par la suite de belles cultures bien typiques de bacilles humains. Mais dans quatre cas la culture n'est jamais devenue macroscopique ; elle était restée au stade de *microculture*.

M. Saenz estime que les microcultures obtenues à partir du sang trahissent l'infection de l'organisme par les formes filtrantes du bacille de Koch. Nous ne pouvons accorder une signification analogue aux microcultures obtenues en partant de crachats qui étaient déjà nettement bacillifères et qui provenaient d'une infection certainement due aux formes visibles.

Mais dans trois de ces cas (Mer..., Dur..., Cal...), il s'agissait de sujets en état déjà très net d'amélioration dont leurs microcultures doivent témoigner de la simple diminution de vitalité de leurs bacilles. Le sujet même (Mer...) qui présentait le plus grand nombre de bacilles à l'examen direct sur lame offrait au

même moment, à la graphie, un remarquable nettoyage radiologique.

Le quatrième sujet (Ber...) qui nous a donné une microculture devait quelque temps après nous fournir une culture macroscopique abondante par l'ensemencement de crachats cette fois cependant négatifs à l'homogénéisation. Il s'agissait d'un dilaté bronchique secondairement et tardivement tuberculisé.

De novembre 1931 à fin 1933 nous avons enfin commencé 59 crachats *non bacillifères* au moment de l'examen mais qui provenaient de sujets plus ou moins suspects de tuberculose pulmonaire encore en activité. 26 ensemencements sont restés stériles au point de vue du bacille de Koch ; 18 nous ont donné de belles cultures typiques de bacilles tuberculeux ; 5 sont demeurés au stade de microcultures. Le délai d'apparition de ces cultures a varié de huit à soixante-deux jours, la durée moyenne étant de vingt-trois jours. Ces cultures de crachats négatifs à l'examen sur lame ont donc été notablement plus tardives que les cultures de crachats qui s'étaient montrées positives dans les mêmes conditions.

Il nous paraît utile d'entrer dans le détail de nos cas, afin de mieux faire saisir l'intérêt de la mise en culture des crachats.

1° Voici tout d'abord six malades (Vio..., Jay..., Tho..., Thi..., Par..., Meh...), atteints de lésions fibro caséuses communes, assez peu évolutives, dont les crachats ont été cultivés à l'occasion d'un examen sur lames négatif. Mais cet examen négatif n'a été qu'une exception au cours de leur maladie, ayant été précédé et parfois suivi d'examens positifs. Cinq ensemencements nous ont finalement donné de nombreuses et

belles colonies de bacilles humains ; le fait est évidemment normal. Le sixième ensemencement est resté au stade de microculture. Remarquons que le malade Jay..., ayant fourni cette microculture ainsi que deux de ses camarades, Per..., et Thi..., à culture microscopique, sont encore en bon état ; le quatrième, Tho..., évolue très lentement vers l'aggravation ; le cinquième, Vio..., dont la tuberculose s'est greffée sur un diabète antérieur, n'a vu ses lésions évoluer rapidement que postérieurement à l'ensemencement ; le sixième, Meh..., bacillaire par intermittences, a fait aussi une poussée évolutive mortelle après la culture de ses crachats.

2° Les malades de notre second groupe sont au nombre de dix. Ce sont des sujets atteints de tuberculose fibreuse qui semble stabilisée depuis assez longtemps. Nous nous estimions en droit de les croire complètement débarrassés de leurs expectorations bacillifères. Or, ils nous ont donné huit belles cultures macroscopiques et deux microcultures. La mise en culture de leurs expectorations a donc montré que leur stabilisation n'était qu'apparente et qu'ils restaient encore contagieux pour leur entourage. Nous insisterons quelque peu sur le détail de leurs observations.

M. Ric... a 37 ans ; sa sœur est morte tuberculeuse ; sa fille est atteinte de tuberculose pulmonaire. Il a présenté en 1926 une poussée évolutive qui est restée ouverte jusqu'en 1928. Il s'est alors stabilisé pendant deux ans. Une nouvelle poussée avec expectoration nettement positive a commencé en 1930 ; elle durait encore en mai 1931 au début de la cure sanatoriale conseillée. Mais le malade revient à Paris dans un état excellent en octobre 1931 ; les examens d'expectorations sur lame sont négatifs. Nous considérons le sujet comme cliniquement guéri ; en fait, au début de 1934

il restait toujours en excellent état. Cependant en pleine période de stabilisation apparente, le 11 décembre 1931, l'ensemencement des crachats nous avait donné une très nette microculture.

M. Pai... a 56 ans ; il a fait une pleurésie séro-fibrineuse en 1927, un lupus du nez en 1928 et qui a guéri. En juin 1932, nous constatons des lésions fibreuses de ses poumons à la graphie ; aucun adventice à l'auscultation ; température normale ; état général excellent ; homogénéisation négative. Le malade est considéré comme n'étant pas évolutif. Mais le 29 juin 1932 une mise en culture est faite et aboutit à une belle culture le 26 juillet. Des signes évolutifs apparaissent alors et nécessitent un traitement aurothérapique.

M. Rio... fait en 1920 une poussée évolutive légère et pendant 11 ans demeure inactif. En mai 1931, il présente une petite hémoptysie ; le 23 juillet un examen des crachats est positif ; les examens subséquents sont négatifs. Ils sont restés tels jusqu'au 13 mars 1933. Or, le 8 décembre 1931, à une période d'apparente stabilisation, l'ensemencement nous donne en un mois une belle culture.

M. Des..., 59 ans, présentant des hémoptysies, vient au dispensaire pour la première fois le 29 juin 1922. Un premier examen d'expectorations sur lame est négatif le 20 juin 1929 et faiblement positif le 19 juillet suivant. Le malade a l'aspect d'un simple bronchitique. Il reste stabilisé pendant dix ans. Le 14 novembre 1932 il fait une nouvelle hémoptysie ; on ne trouve pas de bacilles par homogénéisation. A la radioscopie, les sommets apparaissent voilés, les champs sont clairs ; l'auscultation est normale. Cependant l'ensemencement du 22 novembre 1932 nous donne une très nette microculture qui reste telle indéfiniment.

M. Jus..., 49 ans. De famille tuberculeuse, fait en 1913 une pleurésie séro-fibrineuse droite ; un abcès froid costal apparaît en 1914, se fistulise, puis guérit. En janvier 1932 le malade vient au dispensaire avec des signes de pleurite de la base droite. Deux radiographies montrent une obscurité sus-diaphragmatique assez étendue mais homogène. Quatre examens de crachats pour homogénéisation sont négatifs. On admet volontiers que les lésions de cet homme sont pleurales mais non pulmonaires. Cependant le 23 février 1932, l'ensemencement est fait et donne le 21 mars une micro-culture qui se transforme en culture apparente le 5 avril.

La stabilisation continue ; les ensemencements du 18 juin et du 11 octobre 1932 donnent encore des microcultures.

Jean Lat..., 39 ans, est connu au dispensaire depuis 1923. Prisonnier de guerre, il a fait dès 1918, une tuberculose fibreuse par petites poussées évolutives. Mais après un dernier examen sur lame positif le 23 juin 1929, il est demeuré constamment négatif. Le 26 avril 1932, après presque trois ans de stabilisation apparente, l'ensemencement nous donne une belle culture en nappe. Une graphie est faite qui nous montre des lésions surtout scléreuses bilatérales.

M. Aug..., 57 ans, a fait en 1915 une hémoptysie qui a marqué le début d'une tuberculose par petites poussées successives. Mais en 1928 la stabilisation a paru acquise. Le malade se maintient en état satisfaisant. Les examens sur lame restent négatifs. Léger fléchissement de l'état général en décembre 1931. Un ensemencement des crachats est effectué le 12 décembre et aboutit le 12 janvier à une culture macroscopique. Ces constatations, après trois ans et demi de calme, nous sur-

prennent. Elles sont suivies d'une poussée évolutive avec grosses lésions bilatérales fibro-caséuses et nous apprenons en avril 1932 la mort du malade.

M. Laf... est le doyen du dispensaire : il a 83 ans lorsqu'il se présente à nous le 6 janvier 1933. Il n'a pas d'antécédents héréditaires connus ; mais sa première femme est morte de tuberculose après quinze ans de mariage, laissant cinq enfants dont quatre meurent de bacillose entre 19 et 22 ans. Laf... se remarie avec une femme bien portante qui lui donne deux enfants sains. Il se porte très bien même jusqu'en 1926. A ce moment il a 76 ans, et fait une longue poussée fébrile d'un mois qualifiée congestion pulmonaire. Depuis, il souffre, il crache. Mais il continue de vivre ; on le considère comme un vieux bronchitique chronique. Le 9, le 20, le 23 janvier 1933 les examens d'expectorations sont négatifs par homogénéisation, bien que la graphie révèle des champs pulmonaires singulièrement obscurs et brouillés. Le 27 janvier 1933, l'ensemencement des crachats est pratiqué ; il aboutit à une belle macroculture. Ce vieillard de 83 ans est un tuberculeux *contagieux* en dépit de ses multiples homogénisations négatives.

M. Lav..., 26 ans, a perdu un frère de tuberculose. En 1925 il est accepté dans l'aviation, mais en août 1926 il est réformé après hémoptysies. Il se stabilise. Réveil évolutif en janvier 1926 : grisailles non homogènes du tiers supérieur droit ; foyer de sous-crépitanants au sommet. Les examens sur lame sont positifs en 1926 mais deviennent négatifs en janvier 1929 et le demeureront définitivement. Cependant après trois ans et quatre mois de stabilisation clinique parfaite, le 4 mai 1932 une mise en culture des crachats nous donne le 8 juin suivant de belles colonies de bacilles humains.

Louis Cla..., 39 ans, est gazé en 1915, mais ne fait sa première poussée évolutive qu'en 1923 ; on trouve des bacilles par homogénéisation à Laënnec. En avril 1925 il se présente au dispensaire. On le reconnaît atteint de tuberculose fibreuse ouverte avec lésion plus marquée au tiers supérieur droit. Alternatives de stabilisation et d'activité. Mais au début de 1929 la stabilisation paraît définitive ; les examens restent négatifs et le sont encore aujourd'hui. Trois graphies du 15 mars 1930, du 11 mai 1932, du 30 mai 1933 restent identiques. Cependant l'ensemencement des crachats nous donne une macroculture, après trois ans et quatre mois d'une stabilisation qui s'est d'ailleurs ultérieurement maintenue.

Jean Pat... a 40 ans. Il est connu au dispensaire depuis le 1^{er} décembre 1922. Sa mère a présenté une pleurésie ; son père est mort d'une tuberculose en 1929. A 18 ans il commence à tousser, à cracher. A 20 ans il est admis à Bligny et l'on constate des bacilles dans son expectoration décelée par homogénéisation ; à sa sortie Jean Pal... paraît stabilisé ; mais en novembre 1923 il fait une petite poussée évolutive. Un examen direct des crachats fait au dispensaire permet de retrouver des bacilles. La poussée évolutive s'apaise rapidement. De 1924 jusqu'au début de 1934 tous les examens d'expectorations restent négatifs ; tous les examens radiologiques révèlent une obscurité du sommet droit toujours semblable à elle-même. Cependant le 21 mai 1932, huit ans et demi après la dernière poussée évolutive, en pleine période de stabilisation parfaite, l'ensemencement donne une belle culture qui devient luxuriante le 28 juin suivant.

3° On a accoutumé de dire que la collapsothérapie est de supprimer assez rapidement le caractère conta-

gieux des malades. Les expectorations tarissent et les examens sur lame du peu qui en reste cessent d'être positifs. Il est certain que les choses se passent souvent ainsi. *Mais cette stérilisation des crachats est parfois plus apparente que réelle.*

En voici deux exemples :

Albert Sab..., gazé de guerre, présente une hémoptysie initiale en 1927 ; un examen de crachats en mars de la même année révèle la présence de bacilles de Koch. On établit un pneumothorax à l'hôpital Boucicaud. Les examens de crachats sur lames faits soit à l'hôpital, soit au dispensaire sont négatifs depuis 1929 ; ils le sont encore en 1934 et le pneumo est continué.

Cependant le 10 décembre 1931 un ensemencement donne une microculture nettement constatée le 4 janvier après trois ans de stabilisation apparente et cinq ans après le début de la collapsothérapie.

Jean Her..., 28 ans, présentait une tuberculose du poumon gauche de type micronodulaire. Un pneumothorax est établi le 27 octobre 1928. Le malade s'améliore assez lentement, cependant à partir de septembre 1930 les examens de crachats sur lame sont négatifs. Malgré cela, le 8 janvier, trois ans et deux mois après l'établissement de la collapsothérapie, un an et trois mois après la stabilisation apparente, l'ensemencement des crachats donne une culture peu abondante de bacilles du type humain. Malgré cette preuve de l'activité persistante des lésions, le pneumothorax est arrêté. Fort heureusement aucune évolution n'apparaît et un deuxième ensemencement fait le 13 décembre 1933 demeure stérile.

CONCLUSIONS

De l'exposé de ces expériences, il nous est permis de tirer quelques conclusions intéressantes :

1° La méthode de culture des crachats sur les milieux à l'œuf permet de retrouver des bacilles alors que depuis fort longtemps les examens sur lame même après homogénéisation étaient restés négatifs.

2° Elle permet de prévoir chez un bon nombre de tuberculeux fibreux en état de stabilisation apparente l'imminence d'une poussée évolutive.

3° Elle nous a permis de confirmer chez un malade atteint de dilatation bronchique la tuberculisation secondaire de cette broncheectasie.

4° Il serait bon au cours de la collapsothérapie de la mettre en œuvre chaque fois que l'on conserve un doute sur la stabilisation vraie du malade en dépit d'examen négatifs sur lame fréquemment répétés.

5° Elle ne doit pas se substituer complètement à l'inoculation au cobaye ; mais plus rapide dans ses résultats que celle-ci, moins coûteuse dans son application, plus aisée à exécuter, elle peut fréquemment la remplacer ou tout au moins la précéder.

6° C'est une méthode à mettre en œuvre chaque fois que le clinicien soupçonne l'existence d'une tuberculose pulmonaire chez un individu dont les examens de crachats sur lame se sont montrés négatifs.

CULTURE DU PUS SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

La technique à employer est identique à celle que nous avons décrite pour les crachats.

Elle consiste en :

1° Un traitement préalable par l'acide sulfurique et neutralisation par la soude.

2° Un ensemencement sur plusieurs tubes de milieu de culture.

3° Un ensemencement précoce à partir du huitième jour.

Les résultats obtenus sont très favorables.

Si Kembes paraît préférer l'inoculation à la culture, il n'a pas suivi exactement la technique que nous indiquons ci-dessus et le milieu de culture qu'il a choisi est celui de Hohn qui ne se montre pas le plus sensible.

Mozar, en effectuant ses ensemencements sur milieu de Dorset-Lubenau ou sur celui de Petragnani a obtenu un pourcentage de résultats positifs identique à celui que lui a fourni l'inoculation au cobaye. Il reconnaît

l'avantage de la culture ne serait-ce que pour sa rapidité.

Des examens que nous avons pu faire, il nous est arrivé d'obtenir une culture positive là où l'examen direct et même l'inoculation étaient restés négatifs.

La culture du pus sur les milieux à l'œuf en vue de mettre en évidence le bacille de Koch nous paraît donc réunir le maximum d'avantages : rapidité et pourcentage de résultats élevé.

LA CULTURE DES BACILLES DE KOCH A PARTIR DES URINES TUBERCULEUSES SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

Saenz et Eisendrath qui ont particulièrement étudié cette question utilisent la technique suivante :

« Notre technique consiste à centrifuger 20 à 50 centimètres cubes d'urines (souvent troublées et sanguinolentes) et à déposer le culot dans un mortier stérile que nous broyons dans du sable également stérile. Nous traitons ensuite ce culot par un volume égal soit d'acide sulfurique (selon le procédé de Lœwenstein-Sumijoski-Hohn) à 10 ou 12 pour cent pendant quinze à trente minutes, quand l'infection paraît intense ; soit lorsque la flore microbienne est peu abondante par la soude à 4 ou 10 pour cent avec un contact variant de trente minutes à quatre heures, à la température du laboratoire.

» Nous neutralisons ensuite, comme le fait Petraghani, en présence ou non d'un indicateur (tournesol) avec une solution de soude ou d'acide à 20 ou 30 pour cent, jusqu'à obtention d'un pH égal à 7,2. Nous ensemençons le total de notre culot ainsi préparé sur la surface de six à huit tubes de milieu de Lœwenstein au

vert malachite ou sur celui de Petraghani dans lequel nous substituons l'asparagine à la peptone. »

TECHNIQUE PERSONNELLE

On centrifuge 20 à 50 centimètres cubes d'urine suspecte dans un tube à centrifuger stérile, en verre épais (nous utilisons pour cela des tubes en verre Pyrex très résistants).

Après centrifugation on décante l'urine claire. Dans les mêmes tubes on peut ajouter à nouveau de l'urine, si le culot obtenu la première fois n'était pas assez abondant.

Le culot de centrifugation est additionné de son volume (un demi-centimètre cube environ) d'acide sulfurique à 10 pour cent.

On introduit dans le tube des perles de verre, petites, stériles, au nombre de huit à douze, qui permettent de dissocier facilement le culot et assurent une action homogène de l'acide sulfurique dans toute la masse.

Le contact avec l'acide dilué est prolongé pendant quinze à trente minutes, suivant la pollution de l'urine, en agitant constamment le tube à centrifuger.

Puis on neutralise avec la lessive de soude pure diluée à 25 pour cent en volume. On procède par touches sur un papier de tournesol et après exacte neutralisation, on alcalinise très légèrement. (On utilise en tout un demi-centimètre cube environ de soude diluée.)

L'ensemencement s'effectue sur six tubes de milieu de Löwenstein ou Bergeron et l'examen des tubes a lieu dès le huitième jour (microcultures).

AVANTAGES DE CETTE TECHNIQUE

Cette technique se recommande surtout par sa simplicité : toutes les opérations se font dans le tube à centrifuger stérile, les perles de verre assurent une parfaite homogénéisation de la masse.

La durée de contact de l'acide varie seulement avec le degré de contamination de l'urine qu'il est facile de mesurer par un rapide examen préalable.

La technique que nous proposons est donc une méthode essentiellement pratique applicable dans tous les laboratoires.

EXPÉRIENCES DE SAENZ ET EISENDRATH

Ces auteurs ont donné d'abord à la Société de Biologie les résultats obtenus dans dix-sept cas suspects de tuberculose rénale.

Voici résumés les résultats obtenus :

17 échantillons d'urine examinés :

9 Recherches comparatives : Culture et Inoculation au cobaye	6	B. K. : 0 par examen direct et après homogénéisation.	Culture : 0 Inoculation : 0
		1 B. K. : 0 par examen direct 2 B. K. + par examen direct	Cultures et inoculations positives
8 Cultures seulement		3 B. K. : 0 par examen direct après homogénéisation 5 B. K. : + par examen direct	8 Cultures positives

Plus tard, ils ont publié dans la Presse Médicale le résultat de leurs cultures, comparées souvent à l'inoculation et fréquemment confirmées par la pièce opératoire.

Sur 57 échantillons d'urine examinée, ils ont obtenu trente fois par culture des résultats positifs, dont vingt seulement avaient montré des bacilles à l'examen direct.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Nos expériences ont été faites en collaboration avec M. Texier, directeur du Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital de Limoges (1).

1° Urines bacillifères à l'examen direct

Nos expériences ont d'abord porté sur un lot d'urines présentant toutes des bacilles — parfois excessivement rares — à l'examen direct. En suivant la technique que nous avons indiquée, nous avons obtenu, *dans tous les cas*, d'abord des microcultures positives, puis des macrocultures typiques.

Cette étude, étude préalable de contrôle, nous a permis de constater que les microcultures, obtenues par râclage, étaient positives entre huit et seize jours, le plus souvent après le douzième jour. Il nous paraît utile de noter que les bacilles découverts dans les microcultures nous ont semblé parfois difficiles à mettre en évidence. Il convient, pour ne pas conclure à une

(1) Nous tenons à exprimer à M. Texier notre reconnaissance pour l'accueil bienveillant qu'il nous a réservé dans son laboratoire. Il a bien voulu s'intéresser à nos recherches qu'il nous a facilitées en mettant aimablement à notre disposition les moyens de travail et aussi sa grande expérience. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude.

recherche négative, d'insister longuement sur la coloration à chaud par le Ziehl et de faire agir avec ménagement l'acide azotique dilué.

Dans toutes les urines, bacillifères à l'examen direct, la séparation des urines nous a permis de trouver facilement quel était le rein tuberculeux.

Voici, parmi tant d'autres, quelques-unes de ces expériences :

— M^{me} Dum...

12 septembre 1933.

Urines totales : nombreux polynucléaires. Présence de rares bacilles de Koch.

21 septembre 1933.

Rein droit : Examen direct :

Pas de polynucléaires, absence de germes.

Ensemencement sur milieu de Löwenstein, reste négatif.

Rein gauche : Examen direct :

Nombreux polynucléaires, très rares bacilles de Koch.

Ensemencement sur milieu de Löwenstein. Microculture positive le quatorzième jour.

25 septembre 1933.

Néphrectomie du rein gauche, confirme le diagnostic.

— M^{me} Fal...

23 septembre 1933.

Rein droit. Examen direct :

Absence de polynucléaires et de germes.

L'ensemencement sur milieu de Löwenstein est resté négatif au bout de deux mois.

Rein gauche : Examen direct :

Présence de pus, quelques bacilles de Koch.

Ensemencement sur milieu de Löwenstein, positif dès le douzième jour (microcultures).

M. G...

22 octobre 1933.

Urines totales : Traces de pus, bacilles de Koch rares à l'examen direct.

Rein gauche : Absence de polynucléaires et de germes.
Ensemencement sur milieu de Lœwenstein négatif.

Rein droit : Présence de pus et de bacilles de Koch.
Ensemencement sur milieu de Lœwenstein, positif au seizième jour.

27 octobre 1932.

La néphrectomie du rein droit confirme le diagnostic.

Nous avons ensuite étudié des urines dans lesquelles l'examen direct ne nous avait pas permis de mettre en évidence de bacilles de Koch. Certaines nous ont donné des cultures positives contrôlées par l'inoculation, d'autres sont restées négatives.

Voici quelques expériences typiques :

2° Urines non bacillifères à l'examen direct dans lesquelles la culture sur milieu de Lœwenstein a permis un diagnostic positif confirmé beaucoup plus tard par l'inoculation au cobaye.

M. S..

13 octobre 1933.

Urines totales : Traces de pus.

Absence de germes.

Ensemencement sur milieu de Lœwenstein le 13 octobre.
Microculture positive le 28 octobre, soit quinze jours après l'ensemencement (Macroculture le 17 novembre).

Inoculation au cobaye le 13 octobre :

Le cobaye présente le 17 novembre un petit nodule au point d'inoculation. Sacrifié le 15 décembre, on découvre un ganglion inguinal dans lequel les bacilles sont facilement mis en évidence.

M^{me} R...

20 octobre 19033.

Urines totales : Traces de pus, absence de germes.

Ensemencement sur milieu de Lœwenstein le 20 octobre.

Microcultures positives le 6 novembre.

Inoculation au cobaye le 20 octobre. Celui-ci ne présentant aucun signe extérieur, l'autopsie n'a pas été faite encore (23 décembre.)

3° Urines non bacillifères à l'examen direct n'ayant pas donné de résultat positif par culture sur milieu de Lœwenstein.

M^{me} M...

21 septembre 1933.

Urines totales : Examen direct.

Cylindres granuleux, rares polynucléaires, cellules de desquamation ; absence de germes.

21 octobre.

Urines totales : Examen direct : même résultat.

Ensemencement sur milieu de Lœwenstein : résultat négatif.

M^{lle} B...

23 octobre 1933.

Urines totales : Quelques polynucléaires le plus souvent en amas, bacilles à Gram négatif, rappelant la morphologie du colibacille, recherche du bacille de Koch à l'examen direct négative.

Ensemencement sur milieu de Lœwenstein reste négatif.

M. L...

9 novembre.

Urines totales : A l'examen direct .

Nombreux polynucléaires, levures et colibacille.

15 novembre.

Séparation des urines ;

Rein droit : Quelques hématies seulement, absence de germes.

Rein gauche : Cellules du bassinet, absence de polynucléaires et de germes.

Ensemencement sur milieu de Löwenstein reste négatif.

AVANTAGES DE LA CULTURE DES URINES SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

Les urines renfermant des bacilles visibles à l'examen direct nous ont toujours fourni des cultures positives. L'ensemencement de ces urines sur les milieux à l'œuf constitue un précieux moyen de contrôle, particulièrement dans les cas où les bacilles sont difficiles à mettre en évidence directement.

Par contre, l'examen direct se montre insuffisant dans 25 pour cent des cas. Nos expériences après celles de Saenz et Eisendrath sont assez démonstratives à cet égard. En présence d'urine non bacillifère à l'examen direct il faut, de toute nécessité, recourir soit à la culture, soit à l'inoculation.

Laquelle de ces deux méthodes est la plus sûre ?

Nous répondrons sans hésitation : la culture sur milieu à l'œuf.

Elle est supérieure à l'inoculation :

1° Elle est beaucoup plus simple à mettre en œuvre.

2° Le pourcentage de résultats positifs est plus élevé.

3° Les résultats sont obtenus avec une rapidité remarquable. Grâce à l'examen précoce, ce que nous avons appelé avec M. Saenz, la « microculture », la réponse peut être obtenue parfois dès le huitième jour, le plus souvent entre le huitième et le seizième jour.

Il ne nous semble pas inutile de signaler que certaines urines ne renferment des bacilles de Koch que d'une manière intermittente : d'où la recommandation de multiplier les examens directs et aussi les cultures avant de conclure à l'absence de germes tuberculeux.

La culture des urines suspectes de tuberculose sur les milieux à l'œuf constitue donc un immense progrès sur le simple examen direct souvent en défaut et sur l'inoculation au cobaye dont le moins qu'on puisse dire c'est qu'elle est toujours très longue.

La technique simplifiée que nous proposons, technique qui a fait ses preuves, permet de l'utiliser dans tous les laboratoires ; c'est un moyen d'investigation rapide et précieux pour le dépistage des tuberculoses rénales

CULTURE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

Le liquide céphalo-rachidien renfermant le plus souvent une flore microbienne associée nulle, ce traitement préalable est alors inutile. L'ensemencement doit être effectué aussitôt que possible après le prélèvement aseptique.

Mais lorsqu'on suppose des contaminations ou lorsque le liquide est apporté au laboratoire plus ou moins longtemps après le prélèvement, il est plus sûr d'éliminer les germes banaux.

TRAITEMENT PRÉALABLE

Puca, qui a pratiqué un grand nombre de cultures sous la direction de Lœwenstein lui-même, applique la technique suivante : « 10 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien sont dilués avec 10 centimètres cubes d'eau physiologique et centrifugés pendant vingt minutes à 3.000 tours. On aspire avec une pipette à boule le liquide surnageant que l'on rejette, en laissant seulement 1 centimètre cube au fond du tube à centrifuger. On traite le liquide résiduel par une partie d'acide sulfurique à 10 pour cent pendant cinq à dix minutes. On centrifuge et, après décantation et lavage

à l'eau physiologique, répété à deux reprises, on ensemence le culot sur deux à trois tubes de milieu de Lœwenstein. »

De notre côté, nous avons appliqué une technique très analogue à celle que nous avons décrite à propos de la culture des urines.

TECHNIQUE PERSONNELLE

Dans un tube à centrifuger stérile, on met 10 à 20 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien.

On centrifuge longuement à grande vitesse. Puis on élimine le liquide surnageant et le culot est additionné de son volume d'acide sulfurique à 10 pour cent (les perles de verre sont le plus souvent inutiles). Après un contact très court de cinq à dix minutes, on ajoute de la lessive de soude pure à 25 pour cent en volume jusqu'à neutralisation, puis on alcaline très légèrement (procéder par touches légères sur un papier de tournesol.)

Le culot ainsi préparé est alors ensemencé sur six tubes de milieu de Lœwenstein ou Bergeron.

CULTURE DES ÉPANCHEMENTS TUBERCULEUX DE LA PLÈVRE SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

TECHNIQUE

La technique utilisée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Boucicaut est sensiblement la même que celle qui a été décrite au sujet de la culture des crachats.

L'ensemencement sur milieu de Bergeron a lieu après traitement préalable par l'acide sulfurique, puis neutralisation par la soude.

EXPÉRIENCES ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Ces expériences ont été effectuées au laboratoire de l'hôpital Boucicaut. Les liquides pleuraux examinés provenaient du service de M. le D^r Courcoux (1).

En tout 23 liquides pleuraux, séro-fibrineux, hémorragiques ou purulents ont été examinés. Si l'on veut

(1) Ces recherches et leur interprétation ont fait l'objet d'une communication de MM. Courcoux et Bergeron à la section scientifique de l'Œuvre de la Tuberculose, 18 novembre 1933.

bien retrancher le liquide numéro 1 qui était hémorragique et provenait d'une pleurésie cancéreuse, il reste 22 liquides présumés tuberculeux. Parmi ces 22 liquides 16 ont donné une culture dont les colonies étaient constituées par des bacilles de Koch du type humain. Le pourcentage global de ces positifs s'inscrit donc à 72 pour cent.

Cas N° 1 : Goi... Estelle.

Pleurésie cancéreuse.

Ensemencement le 20 juin 1932.

Reste négatif.

Sur 10 liquides pleuraux apparus au cours d'un traitement collapsothérapique, liquides *ne présentant pas de bacilles visibles à l'examen direct*, huit ont donné de belles cultures dont quatre ont apparu en moins de quinze jours. Le pourcentage de cas positifs est donc de 80 pour cent.

Cas N° 2 : Oge... Joseph.

Pleurésie double.

A droite, pneumothorax hémostatique pour grosse hémoptisie.

A gauche, apparition de liquide.

Ensemencement du liquide gauche le 4 juin 1932.

Reste négatif.

Cas N° 3 : Lap... Lucienne.

Pneumothorax gauche avec réaction liquidienne existant depuis plusieurs mois.

Ensemencement le 29 avril 1932.

Reste négatif.

Cas n° 4 et N° 5 : M^{lle} Pro...

Pneumothorax avec réaction pleurale (côté gauche.)

1^{er} ensemencement le 10 décembre 1932.

Culture le 10 janvier 1933.

2^e ensemencement le 17 février 1933.

Culture le 4 mars.

Cas N° 6 : Hou... Marcel.

Pneumothorax thérapeutique droit.

Le liquide apparaît après une fissure pulmonaire brusque et assez violente.

Examen cytologique du liquide en juin : lymphocytes.

Ensemencement le 29 juin 1933.

Culture le 26 juillet.

Cas N° 7°: Par... Alfred.

Réaction liquidienne au cours d'un pneumothorax gauche.

Ensemencement le 17 janvier 1933.

Culture le 27 février.

Cas N° 8 : Cha... Louis.

Réaction liquidienne au cours d'un pneumothorax droit.

Ensemencement le 24 mars 1933.

Culture le 24 avril.

Cas N° 9 : M^{lle} Hou...

Réaction liquidienne après pneumothorax droit.

Ensemencement le 8 mai 1933.

Culture positive le 7 juin.

Cas N° 10 : Aub... René.

Réaction liquidienne au cours d'un pneumothorax gauche.

Ensemencement le 2 juin 1932.

Culture positive le 19 septembre.

Cobaye positif.

Cas N° 11 : Gra... Maurice.

Pneumothorax gauche : réaction liquidienne avec liquide hémorragique.

Ensemencement le 21 février 1933.

Culture positive le 4 mars.

Quatre liquides de pleurésies séro-fibrineuses récentes de la grande cavité ont tous cultivé. Les macrocul-

tures ont été visibles dès le 21°, 30°, 48° et 60° jour. Le pourcentage de cas positifs est de 100 pour cent.

Cas N° 12 : Le Ce...

Pleurésie gauche ; liquide séro-fibrineux.

Ensemencement le 7 mars 1932.

Culture positive le 25 avril.

Cas N° 13 : Cor... André.

Pleurésie gauche, début de mai 1932.

Ensemencement le 29 juin 1932.

Culture le 17 septembre (Constatation au retour de vacances.)

Cas N° 14 : Cor... Madeleine.

Pleurésie séro-fibrineuse droite en mars 1932.

Ponction exploratrice le 24 mars 1932.

Pleurésie traînante avec température oscillant entre 37° et 38°.

Pas de lésions pulmonaires.

Le liquide rétrocede très lentement.

Le poids reste stationnaire.

Le malade sort de l'hôpital pour entrer au sanatorium d'Angicourt, en raison de la persistance du liquide.

Ensemencement le 24 mars 1933.

Culture positive le 23 avril.

Cas N° 15 : Nan... Germaine.

Pleurésie gauche en avril 1932, avec taches nodulaires au sommet gauche.

Rétrocession progressive. Disparition du liquide en juin 1932.

La dernière radio montre un ensemenement à petites taches nodulaires.

Ensemencement le 12 avril 1932.

Culture positive le 2 mai.

Ce sont les épanchements pleuraux chroniques qui se montrent le plus rebelles à la culture : sur quatre cas

de pleurésie chronique, nous n'enregistrons qu'un seul succès. Le pourcentage de résultats positifs est seulement de 25 pour cent.

Cas N° 16 : Que... Marthe.

Pleurésie droite découverte à l'occasion d'un examen au centre de triage.

Ensemencement le 1^{er} juin 1932.

Résultat négatif le 20 septembre.

Cas N° 17 : Mal... Emilien.

Pleurésie chronique gauche découverte à propos d'un examen au centre de triage.

Ensemencement le 13 janvier 1933.

Reste négatif.

Cas N° 18 : Ber... Henri.

Pleurésie gauche enkystée.

Ensemencement le 21 novembre 1932.

Reste négatif (14 janvier 1933.)

Cas N° 19 : M. Cor...

Pleurésie diaphragmatique gauche.

Ensemencement le 5 juin 1932.

Culture positive le 7 juillet.

Enfin, l'ensemencement de quatre épanchements pleuraux purulents a fourni trois cultures positives. Il est bon de souligner que deux d'entre eux étaient infectés, l'un par des staphylocoques, l'autre par des pneumocoques. La présence de ces bactéries pyogènes n'a pas entravé le développement du bacille de Koch. Le pourcentage de résultats positifs est de 75 pour cent.

Cas N° 20 : Toq... Louise.

Pleurésie récidivante purulente. Absès froid pleural.

Ponctionnée douze fois.

Recherche du bacille de Koch par examen direct négative.

Ensemencement du pus le 6 janvier 1933.

Reste négatif.

Inoculation négative.

Cas N° 21 : M. Dav...

Pleurésie séro-fibrineuse droite, traînante, traitée en ville par des ponctions successives suivies de réinjections d'huile.

Transformation progressive en pleurésie purulente, qui forme une sorte d'abcès enkysté avec une petite fusée vers le tissu sous-cutané, aux environs des 6°, 7°, 8° côtes.

Deux petits points fistulisent.

Recherche des bacilles dans le pus négative.

Ensemencement le 29 avril.

Culture positive le 23 mai.

Cas N° 22 : M. Rob...

Pleurésie purulente à staphylocoques, sans bacilles de Koch à l'examen direct sur lames

Empyème pratiqué d'urgence.

Examen des crachats négatif.

Ensemencement le 16 avril 1932.

Le 22 avril, mise en évidence de bacilles de Koch, mais culture contaminée par des staphylocoques.

(Au cours de la convalescence, les lésions tuberculeuses se réactivent : le poumon opposé présente d'indéniables lésions tuberculeuses.)

Cas N° 23 : Ria... Stéphane.

Epanchement d'abord séro-fibrineux apparu au cours d'un pneumothorax thérapeutique gauche avec section de brides, devenu, un an plus tard, après une forte crise thermique, rapidement purulent.

Epanchement alors infecté par de nombreux pneumocoques.

Bacilles de Koch impossibles à déceler sur lames.
Ensemencement le 31 mars du liquide purulent.
Culture apparente le 12 avril : quelques bacilles de
Koch et des cocci. (Culture positive mais im-
pure.)

**SUPÉRIORITÉ DES MILIEUX A L'ŒUF SUR LES MILIEUX
AUTREFOIS UTILISÉS
POUR LA CULTURE DES ÉPANCHEMENTS TUBERCULEUX**

La supériorité des nouveaux milieux à l'œuf apparaît très nettement lorsqu'on compare les résultats qu'ils nous ont permis d'obtenir à ceux que les différents auteurs enregistraient il y a quelques années seulement.

La culture des épancements de la pleurésie était en effet considérée comme très difficile sur les milieux de Dorset, sur pomme de terre glycinée, sur le milieu de Pétroff, etc...

L'apparition du milieu de Buc avait constitué un immense progrès, comme le montrent les expériences suivantes, toutes très récentes :

Karwacki a ensemencé 33 liquides de pleurésie commune sur différents milieux, principalement sur milieu de Dorset glyciné, eau de pomme de terre glycinée ; il a obtenu trois fois seulement des bacilles acido-résistants repiquables sur milieux usuels et quatre fois des bacilles acido-résistants de première génération qu'il n'a pu repiquer ensuite.

Schlossmann a cultivé 55 liquides de pleurésie franche sur milieu de Pétroff (après traitement par la soude) ; 21 liquides ont fourni un résultat positif.

Veber a essayé de cultiver 16 exsudats pleuraux de pneumothorax artificiel (tous bacillifères à l'examen microscopique) sur milieu de Pétroff et sur pomme de

terre glycinée ; il a obtenu deux résultats positifs seulement et un douteux.

Yevrem Nedelovitchk dont les résultats étaient encourageants en ce qui concerne la culture des exsudats du pneumothorax sur le milieu de Pétroff (80 pour cent de résultats positifs) n'obtenait qu'un pourcentage infime en cultivant sur ce même milieu les exsudats pleurétiques ordinaires (2 résultats positifs seulement sur 150 examens.)

Sur le milieu de Hohn, la culture des épanchements de pleurésie commune était beaucoup plus favorable (16 résultats positifs sur 24), un peu moins sur le milieu de Hohn modifié par addition de violet de gentiane (11 résultats positifs sur 25).

En 1929, Buc fit connaître un milieu nouveau à base de peptone, glycérine et phosphate monobasique de potasse qui se montrait très sensible pour la culture du bacille de Koch à partir des liquides pleuraux. L'introduction du sel de potasse communiquait au milieu une réaction acide et Buc insistait à juste titre sur l'importance de cette acidification.

La technique de Buc, soigneusement élaborée, était particulièrement intéressante. C'est ainsi que Yevrem Nedelkovitch qui n'avait enregistré, comme nous venons de le voir, qu'un pourcentage très faible de résultats positifs en cultivant les exsudats de pleurésie sérofibrineuse sur milieu de Pétroff, réussissait 24 cultures sur 27 en utilisant l'eau peptonée acide.

Buc, d'autre part, donnait une statistique de 59 cas de pleurésie commune, d'apparition récente (liquides clairs ou seulement louche) qui avaient fourni 57 résultats positifs, et 21 cas de pleurésie ancienne (liquides anciens puriformes) qui avaient fourni 14 résultats positifs.

Bezançon et Buc ont ensemencé 6 liquides de pleurésie commune dont 5 ont donné des colonies. Pour les liquides puriformes, ils reconnaissent que ce sont les milieux au sang qui leur ont donné les meilleurs résultats ; ils recommandent particulièrement l'emploi de la gélose glycinée au sang selon la formule de Bezançon et Griffon.

L'énoncé de ces résultats nous permet de constater que la culture des exsudats du pneumothorax artificiel donnait des résultats assez inconstants sur milieu de Pétroff, pomme de terre glycinée puisque le pourcentage était tantôt de 80 pour cent (Y. Nedelkovitch), tantôt de 13,13 pour cent seulement (Veber).

Par contre, la culture des exsudats de pleurésie commune ne donnait qu'un pourcentage de résultats positifs très faible avant l'apparition du milieu de Buc : 9,09 pour cent (Karwacki), 38,18 pour cent (Schlossmann). Le pourcentage de Y. Nedelkovitch était de 1,33 pour cent avec le milieu de Pétroff, 44 pour cent avec le milieu de Hohn violet, 66,7 pour cent avec le milieu de Hohn.

Le milieu de Buc était donc autrefois le meilleur milieu de culture pour l'ensemencement des exsudats tuberculeux de la plèvre. Mais le pourcentage de résultats positifs était très différent selon que l'on s'adressait aux liquides clairs de la pleurésie franche (88,8 % ; 96,61 %), ou au contraire aux liquides puriformes (66,66 %).

Les résultats que nous avons obtenus dans ces deux cas ont été respectivement de 100 pour cent et de 75 pour cent.

Si l'on se base uniquement sur le pourcentage des cultures positives obtenues, le milieu de M. Bergeron nous paraît donc incontestablement supérieur à tous les milieux précédemment utilisés.

D'autre part, tandis que la méthode de Buc, par ailleurs si intéressante, ne permet d'obtenir des résultats que vers la troisième ou la quatrième semaine, il est possible, grâce à l'examen précoce des cultures sur milieu à l'œuf (microculture) de donner une réponse le plus souvent dans la semaine qui suit l'ensemencement.

SUPÉRIORITÉ DES MILIEUX A L'ŒUF SUR L'EXAMEN DIRECT ET L'INOCULATION AU COBAYE

La recherche des bacilles est presque toujours négative à l'examen direct en ce qui concerne les liquides séreux et séro-fibrineux. Nous avons noté par contre 80 pour cent de résultats positifs dans la culture de liquides apparus au cours d'un traitement collapsothérapique, alors qu'il avait été impossible de mettre en évidence, sur lames, des bacilles tuberculeux.

La recherche directe est beaucoup plus souvent couronnée de succès dans l'étude des liquides puriformes, très bacillifères. Mais les bacilles sont parfois peu nombreux et l'examen direct échoue : dans nos observations, la culture a réussi dans 75 pour cent des cas où l'observation directe était restée négative.

L'inoculation au cobaye était considérée, il n'y a pas si longtemps encore, comme la méthode de choix pour la recherche du bacille de Koch dans les épanchements tuberculeux de la plèvre. Mais les résultats obtenus étaient là aussi bien différents avec l'exsudat du pneumothorax artificiel et l'épanchement de la pleurésie séro-fibrineuse primitive : alors que le premier tuberculisait constamment le cobaye, le second donnait des résultats fort inconstants. Voici au sujet de la pleurésie séro-fibrineuse la proportion citée par Bezançon et

Buc : Chauffard 43 %, Kelsch et Vaillard 10 %, Netter 10 %, Eichorst 61 %, Le Damany 85 %, Aschoff 44 pour cent etc... Nous voyons combien ces chiffres sont loin de ceux que nous a fournis la culture.

CONCLUSION

La méthode de culture qui a été soigneusement mise au point au laboratoire de l'hôpital Boucicaut se montre bien supérieure aux techniques précédemment utilisées. Le pourcentage global de cas positifs que nous avons obtenu est de 72 pour cent ; dans les exsudats consécutifs au pneumothorax il s'élève à 80 pour cent, dans les liquides de pleurésie séro-fibrineuse il atteint 100 pour cent et 75 pour cent dans les liquides purulents.

Cette méthode ne saurait être comparée à la recherche directe du bacille de Koch très infidèle et à l'inoculation au cobaye toujours très longue et dont les résultats sont aussi très inconstants.

L'ensemencement des épanchements de la plèvre sur les nouveaux milieux à l'œuf et particulièrement sur le milieu de M. Bergeron, peut être considéré comme la méthode la plus sûre et aussi la plus rapide que nous possédions actuellement.

LA CULTURE DU BACILLE DE KOCH DU SANG SUR LES MILIEUX A L'ŒUF

Bien que connue depuis longtemps, la bacillémie tuberculeuse n'a été l'objet d'études importantes que depuis les travaux retentissants de Lœwenstein.

En effet, Villemin en 1886, bien avant la découverte du bacille de Koch, avait réussi à tuberculiser le cobaye par l'inoculation du sang d'un malade mort de tuberculose pulmonaire chronique. Plus tard, la présence du bacille dans le sang des animaux de laboratoire infestés expérimentalement avait été démontrée par L. Massol et Breton, puis par Stanley Griffith, Léon Bernard, Robert Debré et Baron, A. Krauss, Willis, A. Boquet, Saenz et J. Valtis.

Mais il faut arriver aux recherches de Lœwenstein pour que soient mis en évidence des bacilles de Koch dans le sang des malades tuberculeux. Cet auteur y a réussi, grâce à son milieu à l'œuf doué de l'extraordinaire sensibilité que nous avons eu l'occasion de signaler plusieurs fois déjà au cours de ce travail, et en faisant subir au sang un traitement préalable dont voici la technique :

TECHNIQUE DE LÖEWENSTEIN

On prélève par ponction veineuse aseptique 10 cc. de sang rendu incoagulable par addition préalable de 5 cc. d'une solution de citrate de soude à 10 pour cent.

Les hématies sont hémolysées au moyen de 20 cc. d'eau distillée stérile.

On centrifuge une première fois, on reprend le culot de nouveau par l'eau distillée jusqu'à ce qu'il prenne une teinte grisâtre. On centrifuge une deuxième fois. On agite ensuite le culot pendant trois à cinq minutes avec 1 cc. d'acide sulfurique à 15 pour cent ; on complète ensuite avec de l'eau distillée stérile tout en continuant d'agiter.

On centrifuge, on décante.

On lave encore le culot à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès d'acide.

Après la dernière centrifugation, ce culot est aspiré dans une pipette d'assez gros calibre etensemencé sur six à huit tubes du milieu de Löwenstein.

Les tubes ensemencés sont fermés à la cire et portés à l'étuve en position horizontale.

Les cultures doivent être examinées dès le huitième jour (microcultures). Lorsque les microcultures sont positives, il est bon de réensemencer sur nouveaux milieux.

RÉSULTATS OBTENUS PAR LÖEWENSTEIN

La technique que nous indiquons est la dernière en date proposée par Löwenstein. Car il a eu l'occasion de la modifier et de l'améliorer à différentes reprises.

En utilisant cette méthode, Löwenstein, pratiquant des hémocultures chez des malades atteints de tubercu-

loses diverses, a obtenu un pourcentage de succès vraiment impressionnant. En ce qui concerne les tuberculoses miliaires et les méningites tuberculeuses, Löwenstein et Russeff signalent des résultats positifs dans tous les cas. Dans les tuberculoses chirurgicales, les cultures sont positives six fois sur huit. Enfin, dans diverses tuberculoses, rénales, oculaires et laryngées, les résultats sont particulièrement brillants. La statistique suivante est assez éloquente à cet égard :

RÉSULTATS DE L'HÉMOCULTURE AU COURS DE TUBERCULOSES DIVERSES

AUTEURS VIENNOIS

Auteur	Nature de la tuberculose	Nombre de cas	Résultats positifs	Pourcentage
Löwenstein	Tuberculose pulmonaire..	140	54	38,5 %
	Tuberculose laryngée....	47	26	55,3 %
	Tuberculose rénale.....	22	13	59,09 %
	Tuberculose oculaire....	4	3	75 %
Fischer	Tuberculose pulmonaire..	65	26	40 %
	Tuberculose osseuse.....	12	5	41,66 %
Fischer et Urgoiti	Tuberculoses diverses....	615	253	41,13 %
Russeff	Tuberculose pulmonaire..	17	6	35,28 %
	Tuberculose osseuse.....	8	6	75 %

C'est plus spécialement avec Kren que Löwenstein a pratiqué la culture du sang dans plusieurs cas de tuberculose cutanée, de tuberculides ou de lupus érythémateux. Là encore, les résultats furent particulièrement heureux, comme le montre le tableau ci-dessous.

Ces hémocultures positives permettaient à Kren et

Lœwenstein d'affirmer que certaines tuberculoses de la peau et certaines tuberculides devaient être attribuées à l'existence de bacilles circulant dans le sang. On imagine difficilement, disent-ils, que certaines tuberculoses cutanées soient dues à une dissémination de bacilles et on invoque assez volontiers une théorie toxique. Mais cette théorie n'est plus soutenable maintenant qu'avec la méthode de Lœwenstein on trouve des bacilles dans le sang circulant. Et à l'appui de cette conception, ces auteurs donnaient une statistique de 51 cas de tuberculoses cutanées, dans lesquelles 38 fois la culture avait donné un résultat positif.

RÉSULTATS DES HÉMOCULTURES DANS LA TUBERCULOSE CUTANÉE

AUTEURS VIENNOIS

Auteur	Nombre de cas	Cultures positives	Pourcentage
Lœwenstein Année 1930	347	117	33,77 %
Kren et Lœwenstein Année 1931	66	41	66,12 %
Konrad Année 1932	52	22	42,30 %

Détail des résultats de Kren et Lœwenstein :

Lupus érythémateux.....	17	10
Lupus vulgaire.....	10	5
Erythème induré.....	23	16
Tubercule papulo-nécrotique.....	4	4
Acné télangectoïde.....	4	2
Granulome annulaire.....	3	1
Scrofuloderme et lymphome tuberculeux...	3	2

Mais Lœwenstein n'a pas limité ses recherches de la bacillémie tuberculeuse dans les seuls cas de tuberculose. Le professeur Reitter qui avait eu son attention attirée, depuis longtemps, par la clinique, sur les rapports des polyarthrites, notamment des polyarthrites aiguës avec la tuberculose, avait pu colorer des bacilles de Koch dans le liquide articulaire prélevé à la phase terminale d'un état polyarticulaire aigu. Il n'en fallait pas davantage pour que Lœwenstein essayât de retrouver les bacilles de Koch dans le sang des rhumatisants. Les résultats furent surprenants : chez deux malades atteints de rhumatisme articulaire présentant le type classique du rhumatisme de Bouillaud et sensibles au salicylate de soude, Lœwenstein obtint deux hémocultures positives. Plus tard, en poursuivant ses expériences sur les malades du service de Reitter, Lœwenstein publia une statistique dans laquelle il accusait vingt-deux cas positifs sur vingt-sept cas étudiés. Les bacilles avaient été identifiés, il s'agissait bien de bacilles humains virulents et non de bacilles bovins. Le sang était prélevé au moment d'une poussée thermique chez des malades ne présentant aucun signe clinique ou radiologique de tuberculose.

La relation des angines et des affections de l'amygdale avec le rhumatisme articulaire aigu est classique : comme d'autre part d'après les hémocultures beaucoup de rhumatismes articulaires sont d'origine tuberculeuse, Lœwenstein eut l'idée de rechercher systématiquement le bacille de Koch au niveau des amygdales. Sur quinze examens pratiqués avec Ammersbach, la culture fut positive cinq fois, alors qu'aucun symptôme clinique n'attirait l'attention sur la gorge. La

découverte du bacille dans les amygdales, chez des rhumatisants présentant une hémoculture positive ou non, venait renforcer la théorie de l'origine tuberculeuse du rhumatisme articulaire aigu.

Les publications de Lœwenstein et de ses collaborateurs se succèdent à une cadence accélérée, reflétant l'activité du laboratoire du professeur viennois. Après la découverte du bacille de Koch dans le sang des tuberculeux, la recherche du bacille au cours du rhumatisme pouvait s'expliquer pour donner une consécration bactériologique aux suppositions de Poncet.

Les travaux suivants, purement empiriques, s'adressent à des maladies telles que la chorée et des maladies du système nerveux central sans aucun lien étiologique apparent avec la tuberculose. Là encore, les résultats furent étonnants : sur neuf cas de chorée, la réponse est positive cinq fois ; dans la névrite rétro-bulbaire, les recherches sont positives quatre fois sur six ; dans la sclérose en plaques dix-sept résultats sont positifs sur quarante, et neuf sur vingt-quatre dans la schizophrénie.

Les expériences de Lœwenstein lui permettaient de conclure que de nombreuses maladies, dont l'étiologie était jusque-là ignorée, se révélaient de nature tuberculeuse. L'étude du sang permettra des diagnostics difficiles, disait-il. La culture du bacille de Koch dans le sang circulant deviendra aussi indispensable que la réaction de Bordet-Wassermann pour la syphilis. Mais mieux encore, sa valeur pronostique est certaine, car c'est une démonstration directe de la présence de virus dans le sang et non une réaction indirecte comme les méthodes sérologiques.

RESULTATS OBTENUS PAR LES AUTEURS NON VIENNOIS

On convient facilement que des découvertes aussi sensationnelles n'aient pu laisser indifférents les bactériologistes et aussi les cliniciens du monde entier. Passe encore qu'il soit possible de mettre en évidence des bacilles de Koch dans le sang circulant des tuberculeux, mais les hémocultures positives au cours des maladies du système nerveux central et du rhumatisme articulaire aigu venaient à l'encontre de toutes les théories généralement admises et bouleversaient toutes nos conceptions actuelles.

Enthousiasmés par des recherches aussi fécondes, ou au contraire accueillant avec une sceptique réserve les résultats publiés, la plupart des chercheurs se mirent au travail pour répéter ces expériences ou au contraire pour les contrôler.

Suivant scrupuleusement la technique du professeur Löwenstein, souvent même après un stage d'initiation préalable dans son laboratoire à Vienne, les bactériologistes étudient d'abord les maladies tuberculeuses au cours desquelles les résultats positifs furent particulièrement nombreux. Les premiers résultats se firent attendre : timides au début, car ils annonçaient beaucoup plus d'échecs que de succès, ils jaillirent ensuite de toutes parts n'apportant que déceptions et doute au travers des chiffres livrés dans les statistiques.

Voici une première statistique ne contenant que des résultats négatifs :

RÉSULTATS NÉGATIFS

DES HEMOCULTURES

DANS DIVERS CAS DE TUBERCULOSE

(Le plus souvent tuberculoses pulmonaires)

Auteur	Nombre de cas	Résultats
Axen.	20	tous négatifs
Bingold	15	»
Dettling.		»
Grenet.	62	»
Gualdi.	10	»
Kadisch.	110	»
Kallos.	37	»
Kempner.	315	»
Koch.	25	»
Laymon	140	»
Manteufel.	30	»
Nils Levin.		»
Økonomopoulo, Papanikolaou et Joannides.	18	»
Opitz.	33	»
Schlotz.		»
Selter et Felzer.		»

La statistique suivante, plus heureuse que la précédente, accuse cependant un pourcentage de résultats positifs qui est loin d'être superposable à ceux fournis par la statistique correspondante de Løwenstein :

RESULTATS DES HEMOCULTURES DANS DIVERS CAS DE TUBERCULOSE

(Le plus souvent tuberculoses pulmonaires)

Auteur	Nombre de cas étudiés	Résultats positifs	Pourcentage
Abt (Frieda).....	24	2	8,33 %
Armand-Delille et Manseau..	15	1	6,66 %
Bessau	60	2	3,33 %
	7	0	0
Domingo.	215	10	4,65 %
Lydia Rabinowitsch.....	242	10	4,13 %
Lang.			4 %
Dimitza et Gutscher.....	112	1	0,88 %
Huttig.	59	7	11,86 %
Jontofsohn.	50	3	6 %
Kembes.	165	13	7,87 %
Mach.	60	6	10 %
Piasecka Zeyland.....	79	3	3,78 %
Saenz.	300	18	6 %
»	200	8	4 %
Troisier et Monaldi.....			4 %
Unverricht et Dosquet.....	91	1	1,09 %

Les résultats des auteurs non Viennois en ce qui concerne les tuberculoses diverses, principalement pulmonaires, étaient accablants pour les partisans de Lœwenstein. Au cours des tuberculoses cutanées, alors que Kren et Lœwenstein obtiennent plus de 60 pour cent de résultats positifs — dans certains cas n'ont-ils pas trouvé 100 pour cent de lupus érythémateux positifs ? —, les autres bactériologistes doivent se contenter de succès beaucoup moins impressionnants, encore certains n'obtiennent-ils, dans tous les cas, que des échecs.

Nous avons résumé dans le tableau suivant la statistique des auteurs non Viennois en ce qui concerne les tuberculoses cutanées.

RESULTATS DES HEMOCULTURES DANS LES TUBERCULOSES CUTANÉES

AUTEURS NON VIENNOIS

Auteur	Nombre de cas	Cultures positives	Pourcentage
Alfred Colm.....	27	1	3,70 %
Goujerot, Coste. } Saenz et Costil.. }	9 (psoriasis)	0	0
Haack et Delbanco.....	14	1	7,14 %
Koch (Franz).....	25	0	0
Kallos (Paul).....	32	0	0
Matras ((August).....	20	3	15 %
Mathiesen.	51	7	13,72 %
Schreiner.	24	1	4,16 %

Les statistiques précédentes nous ont toutes montré le désaccord profond des résultats trouvés par les bactériologistes de Vienne d'une part et par les bactériologistes étrangers d'autre part.

Les statistiques concernant les affections rhumatismales ne sont pas plus encourageantes, encore que les publications les plus récentes paraissent accuser un pourcentage un peu plus élevé d'hémocultures positives.

Le tableau suivant oppose les résultats des auteurs étrangers à ceux de Reitter et Löwenstein.

(Dans le tableau ci-dessous où nous relevons les statistiques des chercheurs non Viennois, nous avons volontairement négligé d'indiquer un pourcentage pour les travaux portant sur un nombre de cas insuffisamment élevé.)

HEMOCULTURE AU COURS DES RHUMATISMES (RHUMATISMES AIGUS ET RHUMATISMES TUBERCULEUX)

AUTEURS VIENNOIS

Auteur	Nature du rhumatisme	Nombre de cas étudiés	Nombre de cas positifs	Pourcentage
Lœwenstein et Reitter	Rhumatisme articulaire aigu.....	27	22	81,48 %

*
**

AUTEURS NON VIENNOIS

Ananiadès et Papanargyrou	Rhumatisme articulaire aigu.....	1		%
Bingold et Spier		0		%
Grenet H.	Rhumatisme articulaire aigu.....	9	0	0 %
Kahlmeter M.	Rhumatisme aigu et suraigu.....	40	4	10, %
Laiguel-Lavastine	Rhumatismes chroniques à poussées évolutives ..	3	1	
Mach	Rhumatisme articulaire aigu.....	5	3	»
Paisseau, Ducas et Jean Weil	Rhumatisme articulaire aigu.....	17	1	0 %
	(Bacilles paratuberculeux)			
Weissenbach et Durupt	Rhumatisme tuberculeux.....	20	2	10 %

Nombre de cas trop faibles
pour permettre d'établir
un pourcentage

DIVERGENCE DES RESULTATS OBTENUS

Comment expliquer de telles divergences dans les résultats trouvés à Vienne et dans les laboratoires allemands, français, anglais ou américains ?

Lœwenstein lui-même s'en émeut, car les affirmations des étrangers sur la valeur de sa méthode sont quelquefois loin d'être tendres. Dans une note, il s'étonne des résultats négatifs qui lui sont signalés. Il pense que beaucoup de chercheurs négligent de suivre rigoureusement sa technique et suggère que la raison des échecs vient en grande partie de la préparation défectueuse du milieu nutritif. Pour lui, les fautes sont dues principalement à la stérilisation qui a eu lieu dans un stérilisateur à *sec* au voisinage de 80°, alors qu'il convient d'utiliser *un courant de vapeur*.

Il rappelle l'usage de l'acide acétique au tiers ou à 1 pour cent qui donne de bons résultats ; l'élimination de l'hémoglobine doit être totale. D'autre part, il insiste sur la quantité de sédiment qui ne doit pas dépasser deux à trois centimètres cubes et doit être mise tout entière dans le milieu de culture.

Ne faisant grâce d'aucun détail, il va même jusqu'à donner les dimensions du tube de verre stérile qui servira à ensemencer le sédiment : il doit avoir de trois à quatre millimètres de diamètre et 0 cc. 5 de capacité.

Il revient sur la nécessité de placer horizontalement dans l'étuve les tubes de culture fermés à la cire et de pratiquer systématiquement des examens microscopiques, nous dirions des microcultures, les cultures étant, en effet, dans 30 pour cent des cas, microscopiques.

A ces critiques de Lœwenstein, les bactériologistes mis en cause ont beau jeu pour lui répondre.

C'est Harms et Merkel qui pensent que Lœwenstein ne peut reprocher à ceux qui ont cherché à obtenir ses résultats de n'avoir pas su appliquer sa technique, puisque celle-ci a été modifiée constamment au cours de ces dernières années.

Le défaut d'élimination totale de l'hémoglobine ? Mais les expériences précises de Frieda Abt d'une part, celles de Saenz et Costil d'autre part, ne tendent-elles pas au contraire à prouver que l'hémoglobine n'empêche pas la croissance du bacille tuberculeux ? Les conclusions de Saenz et Costil sont très nettes : « Ces deux expériences et d'autres semblables que nous avons faites depuis démontrent que, contrairement à ce qu'a dit Lœwenstein, l'hémoglobine n'exerce aucune action empêchante sur le développement du bacille de Koch, puisque ce sont des fragments de caillots rouge-noir qui ont toujours fourni le plus grand nombre de colonies. D'ailleurs, les faits récemment publiés par Ninni et Bretey viennent à l'appui de ce que nous avons constaté. Elles apportent en outre la preuve que, contrairement à ce qu'ont écrit quelques auteurs qui s'étaient cru autorisés à croire que, dans le sang circulant, les bacilles de Koch devaient être cantonnés dans les leucocytes, c'est en dehors de ceux-ci qu'ils sont le plus nombreux. »

La mauvaise préparation du milieu ? Faut-il croire avec Lœwenstein que le mode de stérilisation à sec ou par un courant de vapeur puisse avoir une telle influence sur la valeur du milieu nutritif ? Comment concevoir que des tubes de culture qui se montrent excellents pour l'ensemencement de produits pathologiques ne le soient pas également pour la culture du sang ?

Enfin, comment expliquer que des bactériologistes

qui ont étudié la technique de l'hémoculture sous la direction de Lœwenstein lui-même, revenus chez eux ne puissent obtenir les mêmes résultats que ceux publiés à Vienne ? C'est le cas cependant de Saenz, de Mach, d'un collaborateur du professeur Manteufel et de combien d'autres...

Un fait plus troublant encore nous est fourni par les études de Mathiesen. Celui-ci, qui a étudié parallèlement avec Lœwenstein le sang de cinquante-et-un sujets (dont vingt-trois lupus érythémateux, dix lupus vulgaires, quatre érythèmes indurés de Bazin, etc...) n'a obtenu au total que sept résultats positifs, tandis que le professeur viennois en obtenait treize...

Nous voulons bien croire que la technique de l'hémoculture décrite par Lœwenstein est très difficile à mettre en œuvre. Popper, Bodart et Schindler ne nous avouent-ils pas qu'ils ont dû faire plus de quatre cents essais avant d'arriver à un résultat positif ? Mais la difficulté même de la méthode ne saurait expliquer les résultats aussi contradictoires que ceux du laboratoire de Lœwenstein et ceux de tous les autres laboratoires.

Les travaux de Lœwenstein et de ses collaborateurs annonçant qu'ils trouvaient fréquemment le bacille tuberculeux non seulement dans le sang des tuberculeux, mais encore des rhumatisants aigus, voire des malades atteints de sclérose en plaques, de démence précoce, de névrite rétro-bulbaire, avaient fortement ému les phthisiologues et les bactériologistes allemands. Kurt Meyer eut l'idée de faire une enquête auprès des bactériologistes de son pays pour connaître à la fois leurs résultats et leur opinion sur la valeur de l'hémoculture. A ce référendum, plusieurs maîtres de la bactériologie allemande se sont empressés de répondre, parmi les-

quels on relève les noms de Bessau, de Leipzig, d'Alfred Cohn, de l'Institut Robert Koch de Berlin ; Ernst Kadisch, de Berlin-Charlottenburg ; le professeur Mantufel, de Dusseldorf ; Werner Engel, de Berlin ; D^r Saegler, de l'hôpital « Waldaus Charlottenburg », etc...

Dans leur réponse, à côté de leurs statistiques, souvent négatives, mais toujours très inférieures à celles de Lœwenstein, tous demandent des recherches de contrôle, certains peuvent parler d'un « mystère » que l'avenir prochain éclaircira et Kurt Meyer conclut que de nouvelles recherches sont nécessaires et que le moins qu'on puisse dire actuellement c'est qu'un gros doute persiste sur les données et les interprétations apportées dans ces derniers mois par Lœwenstein.

Ainsi, tandis que d'un côté Lœwenstein s'étonne des résultats négatifs et des insuccès rencontrés par les chercheurs qui utilisent sa méthode, ceux-ci par contre, restent sceptiques sur des résultats positifs signalés à Vienne seulement. Car si les statistiques du professeur viennois atteignent et le plus souvent dépassent 60 pour cent de résultats positifs, ailleurs la réponse des statistiques est à peine de 6 pour cent.

Est-il possible de donner une explication à des recherches aussi contradictoires, qui s'opposent et paraissent à priori inexplicables ?

Une question qui s'impose tout de suite à l'esprit est celle-ci : les bacilles mis en évidence par Lœwenstein sont-ils d'authentiques bacilles tuberculeux, et des bacilles virulents ?

Des causes d'erreur, en effet, ont été invoquées : ne pourrait-il y avoir des bacilles dans les œufs qui servent à la préparation des milieux de culture ?

C'est Lischtenstein qui, avec des expériences à

l'appui, répondra à cette question. Sur 525 œufs du commerce, il a pu déceler deux fois des bacilles de la tuberculose aviaire, soit 0,28 pour cent. Sur 216 œufs de poules élevées à l'Institut le pourcentage s'élève à 0,46 pour cent.

Les erreurs ne sauraient donc provenir de la présence de bacilles dans les œufs : d'ailleurs les milieux de culture sont toujours mis quarante-huit heures à l'étuve au moins pour contrôler leur stérilité. Bien mieux, M. Bergeron eut l'idée d'ajouter des bacilles pendant la préparation de son milieu de culture et les tubes mis ensuite à l'étuve sont toujours restés indéfiniment stériles.

Une autre cause d'erreur plus importante à notre avis et sur laquelle il convient de s'arrêter est la présence fréquente dans les cultures de bacilles pseudo-tuberculeux, de bacilles acido-résistants, et de saprophytes qui peuvent être pris pour d'authentiques bacilles de Koch.

Eichbaum a pu dire que dans la nature il existe une foule de bacilles qui par leurs propriétés et leurs affinités tinctoriales peuvent rappeler le bacille de la tuberculose. Il signale en particulier les bacilles acido-résistants des voies respiratoires et l'existence d'un bacille acido-résistant du smegma qui peut donner lieu à des interprétations fausses dans l'étude des tuberculoses rénales.

Lichtenstein, puis Paiseau, Ducas et Jean Weill ont pu mettre en évidence des bacilles paratuberculeux. Enfin, Saenz a insisté à juste titre sur les réserves qu'il convient d'apporter dans l'interprétation des hémo-cultures, car il a très souvent rencontré des bacilles paratuberculeux. « Pour trois d'entre ces onze cas (Souches Bl..., Xa... et Pr...), — donc pour 30 pour cent de

nos cultures positives — il s'agissait de bacilles acido-alcool-résistants qui se sont montrés dans la suite totalement dépourvus de propriétés pathogènes pour les animaux sensibles aux diverses tuberculoses. »

Ces bacilles provenant bien du sang des malades et non d'une contamination accidentelle : « Il nous paraît que leur origine hématogène est certaine. »

Le professeur Debré a, par ailleurs, signalé que dans l'étude des produits de raclage — ce que nous appelons microcultures — il a pu arriver qu'on donne le nom de bacilles à des filaments de fibrine acido-alcool-résistants.

Les causes d'erreur sont donc nombreuses dans l'interprétation des hémocultures. Il ne suffit pas de mettre en évidence des bacilles acido-alcool-résistants pour conclure à une recherche positive, encore convient-il de faire la preuve qu'il s'agit de bacilles de Koch, virulents pour les animaux de laboratoire.

Nous sommes persuadés que de telles précautions ont été prises à Vienne, d'ailleurs la culture d'un bacille isolé du sang par Lœwenstein a été étudiée à l'Institut Pasteur et il a été démontré qu'il s'agissait bien d'un bacille tuberculeux virulent.

Nous ne pouvons donc qu'admettre les résultats de Lœwenstein sans comprendre pourquoi les mêmes expériences n'ont pu être répétées ailleurs.

Peut-on penser comme Paraf et Abaja qu'il s'est glissé, par suite sans doute de fautes assez grossières de technique, une importante cause d'erreur dans la façon de procéder du professeur viennois et qu'ainsi s'expliquent les hémocultures trouvées positives au cours d'affections non tuberculeuses ?

Nous est-il possible d'admettre le terme de « mys-

tère » évoqué par le professeur Manteufel, et auquel certains voudraient donner un sens plus large de « mystification » qui ne traduit certainement pas la pensée du professeur allemand ?

Nous n'irons pas jusque-là. La méthode de culture du sang, selon le procédé de Lœwenstein est, nous ne craignons pas de le répéter, très difficile. Une première acquisition toutefois de cette hémoculture est d'avoir mis en évidence la fréquence, ignorée jusque-là, de la bacillémie tuberculeuse. Mais il nous semble encore prématuré de tirer des conclusions des expériences contradictoires de Lœwenstein et des autres chercheurs.

La parole doit encore rester au laboratoire. Nous n'en voudrions pour preuve que la très récente communication du D^r Courmont à l'Académie de médecine qui vient éclairer d'un jour nouveau nos connaissances sur la bacillémie tuberculeuse : rappelons que ce savant a pu déceler dans le sang circulant des bacilles *non acido-résistants* auxquels il donne le nom de bacilles « nus ». Cet état répond aux formes jeunes du bacille de Koch non encore revêtu de son enveloppe cireuse, laquelle est la cause de l'acido-résistance du bacille adulte. Ces bacilles « nus » qui sont ceux que Courmont a observés depuis 1898 avec S. Arloing dans les cultures homogènes du bacille de Koch seraient donc la principale forme du bacille tuberculeux circulant dans le sang.

Cette découverte à elle seule pourrait expliquer bien des points obscurs encore de la bacillémie tuberculeuse et tout d'abord la divergence dans les résultats obtenus jusqu'alors.

INTERPRÉTATIONS DES RESULTATS OBTENUS LA NOTION DE " VIRUS DE SORTIE "

Nous avons vu au cours de cet exposé quelles déductions Lœwenstein pouvait tirer de la mise en évidence dans le sang du bacille de Koch.

Pour lui, aucun doute n'est possible : toute affection au cours de laquelle la bacillémie est positive est de nature tuberculeuse. Dans un de ses articles, ne dit-il pas à peu près ceci : quand nous trouvons des bacilles de Koch dans les crachats nous ne doutons pas un moment du diagnostic, pourquoi en douterions-nous quand nous le trouvons dans le sang ? Voici ce qu'il écrit plus loin : « Il n'y a qu'une déduction possible : *la tuberculo-bacillémie se trouve seulement dans les cas où la tuberculose est la cause de la mort ou au moins où elle se trouve dans une phase d'évolution aiguë.* »

Ainsi la preuve serait faite de la nature tuberculeuse du lupus érythémateux, du rhumatisme articulaire aigu, de la démence précoce et de nombreuses maladies du système nerveux central.

Reconnaissons en toute impartialité que si les travaux des bactériologistes du monde entier avaient confirmé ceux du professeur viennois nous aurions mauvaise grâce de ne pas adopter ses conclusions.

Mais de même que ses expériences sont très controversées, de même ses interprétations sont loin d'être admises par tous.

Les auteurs français se montrent beaucoup plus éclectiques dans leurs conclusions. Ils s'appuient sur des observations cliniques d'une réelle valeur, étayées par de précieux examens de laboratoires. Nous n'en voudrions pour exemple que cette communication de Troisier et de de Sanctis Monaldi à l'Académie de Méde-

cine, où ils apportaient trois observations qui prouvaient qu'au cours de certaines maladies infectieuses on pouvait mettre en évidence la bacillémie tuberculeuse alors que celle-ci n'était pas la cause du processus pathologique en cours.

Parmi ces observations, l'une concernait une pneumonie franche aiguë terminée au sixième jour par une crise légitime : le malade guérit et fut revu en pleine santé quatre mois plus tard ; l'examen radiologique ne révélait aucune lésion. Les deux autres observations avaient trait à un cas d'endocardite infectieuse et à un cas de méningite cérébro-spinale suppurée à miningo-coque A.

Mais le laboratoire ne nous apprend-il pas que souvent l'injection d'une culture microbienne à un animal fait apparaître une autre variété microbienne, que le premier microbe fait ainsi sortir de l'organisme un second microbe pathogène ou non ? C'est ce que l'on appelle en terme de laboratoire un « virus de sortie ».

L'explication de l'hémoculture trouvée positive dans leurs trois observations nous est donnée par Troisier et de Sanctis Monaldi : « Si, au cours d'une pneumonie franche aiguë, au cours d'une poussée évolutive d'une maladie d'Osler, au cours d'une méningite cérébro-spinale, nous avons pu déceler le bacille de Koch par hémoculture, c'est que les sujets étaient antérieurement atteints d'une tuberculose latente, occulte, torpide. A la faveur de la maladie aiguë pneumococcique, streptococcique, méningococcique, le bacille tuberculeux qui végétait dans l'organisme est sorti de ses repaires et a pu être caractérisé dans la circulation sanguine. »

« Nous en arrivons donc à conclure que le bacille de Koch, chez nos trois malades, s'est comporté comme un

virus de sortie ; ce n'est pas lui qui était l'agent pathogène de la maladie qui a provoqué ou non la mort : c'est le streptocoque, c'est le pneumocoque, c'est le méningocoque qui étaient les *agents pathogènes majeurs*, ce sont eux qui ont provoqué l'un l'endocardite maligne, l'autre le bloc pneumonique, le dernier enfin la pie-mérite généralisée. Le bacille de Koch a été révélé par l'hémoculture comme un agent *pathogène mineur* : ce n'est pas lui l'agent responsable de la maladie qui, par deux fois, a provoqué la mort. »

Un mouvement très net se dessine en France contre la tendance actuelle à trouver dans la seule constatation de la bacillémie la démonstration de la nature tuberculeuse de la maladie étudiée. Parmi les promoteurs de ce mouvement, citons le professeur Sergent, Coste, Débré et Philibert pour ne parler que des plus connus.

Voici d'ailleurs comment s'exprimait le professeur Sergent dans sa communication à l'Académie de Médecine : « Le fait de mettre en évidence dans le sang circulant le bacille de Koch n'implique pas nécessairement que la maladie en cours est due à ce bacille, même si l'inoculation au cobaye en démontre la virulence. Ce fait indique simplement que les bacilles de Koch sont en circulation dans la canalisation vasculaire sanguine, sans autoriser à admettre que cette bacillémie est durable et non pas seulement éphémère : la notion des décharges bacillaires est bien établie par l'observation clinique. »

La notion de « virus de sortie » nous paraît devoir s'imposer dans de nombreux cas de bacillémie tuberculeuse. Les belles expériences de de Sanctis Monaldi à l'Institut Pasteur ont prouvé la fréquence de ce phénomène chez les animaux de laboratoire. D'autre part, la clinique apporte chaque jour de nouvelles preuves de sa constatation en pathologie humaine.

CONCLUSION

Un premier résultat de l'hémoculture selon le procédé de Lœwenstein est d'avoir mis en évidence la fréquence de la bacillémie tuberculeuse. Philibert reconnaît qu'elle est « d'une fréquence beaucoup plus considérable qu'on ne le soupçonnait jusqu'ici et que le bacille de Koch se révèle vraiment sous un nouvel aspect de sa vie parasitaire ».

Mais si ce premier point est définitivement acquis, la divergence des résultats obtenus dans le laboratoire de Vienne et dans les autres laboratoires ne nous permet pas d'accepter les interprétations de Lœwenstein en ce qui concerne la nature tuberculeuse de diverses maladies parmi lesquelles le rhumatisme articulaire aigu, la chorée et de nombreuses affections du système nerveux central. La notion de virus de sortie évoquée par Troisier et de Sanctis Monaldi nous paraît devoir être retenue.

Toutefois, de nouvelles recherches de laboratoire s'imposent. La découverte par Courmont de bacilles « nus » dans le sang circulant présente une importance considérable qui appelle de nouvelles expériences.

La méthode de Lœwenstein pour la culture de sang est très difficile. Cette difficulté même ne permet pas de répandre son usage dans tous les laboratoires de clinique. Le jour n'est pas encore venu où, comme le voudrait Lœwenstein, elle pourra être mise en parallèle avec la réaction de Bordet-Wassermann pour la syphilis.

Mais l'étude de la bacillémie tuberculeuse doit être entreprise ou poursuivie dans tous les laboratoires de recherches expérimentales. Il faut espérer qu'elle nous apportera, dans un avenir prochain, la *preuve indubitable* de la nature tuberculeuse ou non de plusieurs maladies qui jusqu'à présent peuvent être considérées comme sans aucun lien étiologique avec la tuberculose.

CONCLUSIONS

1° L'étude comparée des milieux à l'œuf et des milieux spéciaux autrefois utilisés pour la culture du bacille de Koch nous a montré la supériorité indiscutable des milieux à l'œuf.

2° Parmi les milieux à l'œuf actuellement connus, les meilleurs nous paraissent être ceux de Lœwenstein, Hohn, Petragani, Bergeron.

3° A l'appui de nombreuses expériences, nous avons mis en relief la facilité de la culture du bacille de Koch sur les milieux à l'œuf à partir des produits pathologiques. Nous avons prouvé que cette culture était beaucoup plus sensible que la recherche directe et même l'inoculation cobaye.

4° Un avantage précieux de la culture sur les milieux à l'œuf et sa rapidité. Grâce à l'examen précoce des tubes par raclage recommandé par Lœwenstein, appelé aujourd'hui microculture, il est possible de donner une réponse le plus souvent entre le 8° et le 15° jour qui suit l'ensemencement.

5° Pour le traitement préalable des produits pathologiques, le traitement de choix paraît être celui de l'acide sulfurique suivi d'une neutralisation par la soude.

6° De la culture des crachats, il nous est apparu :

Que la méthode de Lœwenstein permet de prévoir chez un bon nombre de tuberculeux fibreux en état de stabilisation apparente l'imminence d'une poussée évolutive ;

Qu'elle doit être mise en œuvre toutes les fois que le clinicien soupçonne l'existence d'une tuberculose pulmonaire chez un individu dont les examens de crachats sur lames, même après homogénéisation, sont restés négatifs.

7° Nous avons décrit une technique personnelle pour le traitement préalable des urines ; cette technique s'applique également au traitement du liquide céphalo-rachidien.

8° De la confrontation des résultats des hémocultures de Lœwenstein et des autres chercheurs nous est apparu une divergence profonde. Le moment n'est pas encore venu, semble-t-il, d'essayer d'interpréter des résultats aussi contradictoires.

9° La culture sur les milieux à l'œuf, parfaitement au point pour l'étude des produits pathologiques, constitue une méthode pratique qui doit être mise en œuvre dans tous les laboratoires de clinique.

En ce qui concerne la bacillémie tuberculeuse, son étude doit être réservée aux seuls laboratoires de recherches expérimentales.

Vu : *le président de Thèse,*
F. BEZANÇON.

Vu : *le Doyen,*
G. ROUSSY.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ABT (Frieda). — La recherche par la culture de bacilles de la tuberculose dans le sang. *Recherches sur le cobaye et sur l'homme*. — Schweizerische medizinische wochenschrift, 7 novembre 1931, **61**, n° 45.
- AMMERSBACH (Karl), LOEWENSTEIN (Arnold) et LOEWENSTEIN (Ernst). — *Sur la présence sans symptômes (propres) de bacilles tuberculeux dans le tissu des amygdales au cours du rhumatisme articulaire récidivant et au cours de la névrite rétrobulbaire*. — Münchener med. Wochenschr., 26 juin 1931, n° 26, p. 1078-1080.
- ANANIADES (B) et PAPANARGYROU (N.). — *Valeur comparée de l'inoculation au cobaye et de la culture pour la recherche du bacille de Koch dans le sang des Tuberculeux*. — C. R. Soc. Biol. 1933, **112**, p. 436.
- *Choc et Bacillémie tuberculeuse expérimentale*. — C. R. Soc. Biol. 1933, **112**, p. 953.
- *Rhumatisme articulaire aigu et bacillémie tuberculeuse*. — C. R. Soc. Biol. 1933, **112**, p. 955.
- ARMAND-DELILLE (P.), LESTOCQUOY (Ch.) et MONCEAU (Y.). — *Tuberculose pulmonaire du nourrisson simulant une broncho-pneumonie, bacillémie constatée par la méthode de Lœwenstein*. — Société médicale des Hôpitaux, 6 mai 1932.
- ARMAND-DELILLE (P.) et GAVOIS (H.). — *Caractère et virulence d'un bacille tuberculeux humain isolé du sang par la méthode de Lœwenstein*. — Soc. de Biol., 12 novembre 1932.
- *Dissociation des variétés S et R dans des cultures de Bacilles Tuberculeux humains isolés du sang par la méthode de Lœwenstein. Sélection par passage chez le cobaye*. — C. R. Soc. de Biol. 1933, **112**, p. 1150.
- *Etude des caractères et de la virulence d'un bacille tuberculeux humain isolé du sang par la méthode de Lœwenstein*. — Le Bulletin médical, 4 mars 1933.

- AUBERTIN (E.) et REYNES (V.). — *Sur le pouvoir pathogène des cultures de bacilles acido-résistants obtenus à partir des éléments filtrables tuberculeux.* — Soc. de Biol. de Bordeaux in C. R. de la Soc. de Biol., 1932, **111**, n° 38.
- D'AUTONA (L.). — *Sul valore del metodo di Lœwenstein per lo studio della bacillemia tubercolare.* — Giorn di batteriol e ummunol. — Décembre 1931, p. 864-868.
- AVERSENQ. — *Sur la bacillurie tuberculeuse.* — Com. au 32° Congrès français d'urologie, Paris, 8 octobre 1932.
- AXEN (A.). — *La question des bacilles de la tuberculose dans le sang circulant.* — Klinische Wochenschrift, 19 novembre 1932, **11**, n° 47.
- BADER (Siegfried). — *Contribution à la question de la bacillurie tuberculeuse.* — Zeitschrift für Tuberculose, août 1932, 45, n° 3.
- BENEDETTI (V. DE) et GALLOTTI (E.). — *Il metodo de Lœwenstein par la cultura del bacillo di Koch dal Sangue.* — Riv. di pat. e clin. d. tuberc., mai 1932, p. 424-427.
- BERGERON (A.). — *Culture des bacilles de Koch des crachats sur les milieux à l'œuf.* — Revue de la Tuberculose, 1932, **13**, p. 509.
- BERNARD (L.), DESBUQUOIS et THOYER. — *Application de la recherche des éléments bacillaires sans lésines caséuses d'inoculation à la question de la bacillémie des Tuberculeux.* — Revue de la Tuberculose 1929, **10**, p. 536.
- BERNARD (LÉON). — *La recherche des bacilles de Koch dans l'expectoration et le diagnostic de la tuberculose pulmonaire.* — Revue Médicale Française, juin 1932.
- BEZANÇON (F.) et BUC (E.). — *La cellule directe du Bacille de Koch dans les épanchements tuberculeux de la plèvre.* — Presse médicale, 1931, n° 82, p. 1493.
- BEZANÇON (F.) et BRAUN (P.). — *Culture de crachats et de produits pathologiques sur milieu de Petraghani.* — Revue de la Tuberculose, 1932, **13**, p. 516.
- BIANCHI (L.). — *Sul metodo di Lœwenstein per la cultura de bacillo tubercolare dal Sangue.* — Boll. di Soc. Med. Chir. Pavia, 1932, p. 279-308.
- BIDERMANN (A.). — *La bacillemie tuberculeuse. Sa recherche par la méthode de Lœwenstein.* — La clinique, nouvelle série n° 201, mars 1933, p. 93.
- BINGOLD (K.) et SPIER (W.). — *A propos de la culture directe des bacilles tuberculeux à partir du sang.* — Münchener med. Wochenschr., 6 novembre 1931, n° 45, p. 1899-1901.

- BLECHMAN. — *Milieux de Pétroff et de Petraghini pour l'isolement des bacilles tuberculeux à partir des crachats.* — Revue de la Tuberculose, 1927, p. 748.
- BOQUET (A.). — *Sur la Bacillémie et la virulence des tissus apparemment sains des cobayes tuberculeux.* — C. R. de la Soc. de Biol. 1932, **109**, p. 1166.
- BRINKMANN (R.). — *Recherches comparatives du bacille de la Tuberculose par le procédé de culture de Hohn et l'expérimentation sur l'animal.* — Die Tuberkulose, 20 octobre 1930, **10**, n° 10.
- BRUYNOGKE (R.) et ADANT (M.). — *La bacillémie tuberculeuse.* — Soc. belge de Biol. in C. R. Soc. de Biol., 1932, **111**, n° 40.
- BUC (E.). — *Cultures du Bacille de Koch en milieu acide.* — C. R. Soc. de Biol. 1923, **88**, p. 1135.
- *Procédé de culture du Bacille de Koch dans les épanchements pleuraux.* — C. R. Soc. de Biol. 1928, **98**, p. 1495.
- *Culture des exsudats pleuraux du pneumothorax artificiel sur la gélose glycinée au sang. (Milieu de Bezançon et Griffon).* — C. R. Soc. de Biol. 1930, **103**, p. 220.
- BUSSON (B.). — *Remarques sur la constitution des bacilles dans le sang au cours du rhumatisme articulaire aigu.* — Wiener Klinische Wochenschrift, 27 mars 1931, **46**, n° 13.
- *La recherche du bacille de la tuberculose dans le sang par l'expérience sur l'animal et par la culture.* — Wiener Klinische Wochenschrift, 13 novembre 1931, **46**, n° 46.
- *La découverte directe des bacilles tuberculeux dans le sédiment sanguin après hémolyse.* — Mediz. Klinik, 27 mai 1932, n° 22, p. 758-759.
- *Sources d'erreurs de l'examen du sang au point de vue bacilles de la tuberculose et moyen de les éviter.* — Deutsche Medizinische Wochenschrift, 3 juin 1932, **58**, n° 23.
- *Quand trouve-t-on des bacilles tuberculeux dans le sang et quelle signification cette découverte a-t-elle pour l'organisme ?* — Mediz. Klinik, 24 février 1933, n° 1, p. 294-296.
- CALMETTE (A.). — *L'infection bacillaire et la Tuberculose chez l'homme et chez les animaux.* — Masson et C^{ie}, Paris 1928.
- CARVALHO (Ernesto de). — *Quelle est la valeur de l'examen microscopique de la culture et de l'expérimentation sur l'animal pour rechercher les très petites quantités de*

bacilles de la tuberculose dans les produits pathologiques ? — Zeitschrift Für Tuberkulose, février 1932, **63**, n° 5.

CARVALHO (Alberlo DE) et JORGE MONIZ PEREIRA. — *Action du soleil sur le Bacille de Koch.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 526.

CAUSSIMON (J.). — *La recherche du bacille tuberculeux dans le sang circulant des tuberculeux pulmonaires.* — Presse Médicale, 1931, n° 24, p. 435.

— *Ce que donne le tubage gastrique chez l'enfant dans le dépistage de la tuberculose pulmonaire.* — Journal médical français, avril 1932.

CLAUDE (H.) et BARUK (H.). — *Tuberculose et démence précoce ; les troubles psychiques dans les « phases torpides » et les phases prémonitoires de la tuberculose.* — Paris médical, 27 décembre 1930, **20**, n° 52.

CLAUSEN (Vilhem). — *La signification de l'examen de l'eau de lavage de l'estomac pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire.* — Acta Tuberculosea Scandinavica, 1931, **5**, n° 4.

CORDIER (Y.). — *Le bacille de Koch, microbe de sortie au cours des pneumopathies aiguës.* — Société médicale des hôpitaux de Lyon, 30 octobre 1923.

— *Valeur sémiologique de l'examen bactériologique des crachats dans la tuberculose pulmonaire.* — Revue de la Tuberculose, 1927, **8**, p. 275.

COSTE. — Discussion à la Société Médicale des hôpitaux, 6 mai 1932.

COURCOUX (A.). — *Maladie de Hodking et Tuberculose.* — Section d'études scientifiques de l'Œuvre de la Tuberculose. — 10 mars 1928.

COURCOUX (A.) et BERGERON (A.). — *Recherches du bacille tuberculeux dans les liquides pleuraux par la méthode de Læwenstein.* — Section d'études scientifiques de l'Œuvre de la Tuberculose. — Novembre 1933.

COURMONT (P.), MOREL (A) et BAY (I.). — *Sur les cultures homogènes de bacille tuberculeux humain A en milieu peptoné à réaction acide dès le début.* — Soc. de Biol. de Lyon, 12 juillet 1926, in C. R. Soc. de Biol. **95**, p. 831.

COURMONT (P.), GARDÈRE (H.) et PICHAT (P.). — *Pouvoir bactéricide des urines pour le bacille de Koch en cultures homogènes.* — C. R. Soc. de Biol. de Lyon, in C. R. Soc. de Biol. 1932, **109**, n° 9, p. 745.

COURMONT. — Communication à l'Académie de Médecine. — Octobre 1933.

- DÉBRÉ (R.). — Discussion à la Société médicale des Hôpitaux. — 6 mai 1932.
- DEIST (H.). — *Bacillurie tuberculeuse comme témoignage d'une infection générale dans la tuberculose pulmonaire.* — Zeitschrift Für Tuberkulose, avril 1932, **64**, n° 4.
- DETLING (H.). — *Recherches sur la mise en évidence des bacilles tuberculeux dans le sang circulant selon la méthode de Löwenstein.* — Münchener med. Wochenschr., 1^{er} avril 1932, n° 14, p. 540.
- DIMITZA (A.). — *Le diagnostic de la tuberculose par la culture des bacilles de la tuberculose.* — Schweizerische medizinische Wochenschrift, 29 décembre 1928, **58**, n° 52.
- DIMITZA (A.) et GUTSCHER (H.). — *A propos de la culture des bacilles tuberculeux à partir du sang par la méthode de Löwenstein.* — München. med. Wochenschr., 25 novembre 1932, n° 48, p. 1917-1920.
- DOMINGO (F.). — *Sur la méthode de Löwenstein dans la bacillémie tuberculeuse.* — C. R. Soc. de Biol., **108**, p. 619.
- DURAND (H.), GASPAR (L.) et MARCOUX. — *Granulomatose et Tuberculose.* — Soc. de Biol., 23 juillet 1932.
- DURAND (H.) et GASPAR (L.). — *Etudes des vieilles cultures desséchées de bacilles tuberculeux. Récupération de la propriété acido-résistante après repiquages sur milieux frais.* — C. R. Soc. de Biol., 1932, **110**, p. 518.
- *Formes atypiques du virus tuberculeux. Retour à la forme commune acido-résistante après culture et inoculation.* — C. R. Soc. de Biol. 1932, **110**, p. 1288.
- EDERLE (W.) et KRIECH (H.). — *La question de l'hémoculture du bacille de la tuberculose, d'après E. Löwenstein.* — Deutsche Mediz. Wochenschr., 1^{er} janvier 1932, **58**, n° 1.
- EICHBAUM (Franz). — *Les saprophytes acido-résistants, analogues aux bacilles tuberculeux, et leur signification pour le diagnostic de la tuberculose.* — Société de médecine de Francfort-sur-le-Mein, séance du 16 janvier 1933, Mediz. Klinik, 31 mars 1933, n° 14, p. 473.
- EISENDRATH (de Chicago). — *La « microculture » et son importance dans le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines.* — Comm. au 32^e Congrès Français d'Urologie, Paris, 4-8 octobre 1932.
- FARJOT (A.). — *Etude comparative des différents moyens de préparation des crachats pour l'inoculation au cobaye en vue du diagnostic de la tuberculose.* — Soc. de Biol. de Lille, in C. R. de la Soc. de Biol., 1933, **92**, n° 10.
- *Sur la recherche de la tuberculose dans les crachats par*

- l'inoculation et la culture.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 770.
- FAVERO (E.). — *Esperimenti sul procedimento emo-culturale di Læwenstein nel corso dell'infezione tubercolare.* — Gior. di tisiol., feb. 29-1932, p. 38-44.
- FILIPPINI (A.). — *La bacillemia tubercolare e le ricerche di Læwenstein.* — Ann. d'ig. 42 : 162-167, March 1932.
- FISCHER (Alfred). — *Résultats de la culture des bacilles tuberculeux à partir du sang suivant la méthode de Læwenstein.* — Zeitscher. F. Tuberk. 5 février 1930, **58**, p. 331-334.
- FISCHER et URGOITI. — *Signification clinique des bacilles tuberculeux obtenus en culture pure d'après la méthode de Læwenstein.* — Beitr. Klin. Tuberk. **76**, p. 484.
- FIESSINGER (N.) et CATTAN (R.). — *Granulomatose maligne et tuberculose.* — Société méd. des Hôpitaux 11 mai 1928.
- GOUGEROT, COSTE (F.), SAENZ (A.) et COSTIL. — *Psoriasis et bacillémie tuberculeuse.* — Com. au III^e Congrès du Rhum., Paris, 13-15 octobre 1932.
- GRENET (H.). — *Maladie rhumatismale et infection tuberculeuse.* — Congrès International du Rhumatisme, Paris, 13-15 octobre 1932.
- *Maladie rhumatismale et infection tuberculeuse.* — Gazette des hôpitaux, 2 novembre 1932.
- GRIFFITH (A. Stanley). — *Le type du bacille de la tuberculose dans le lupus.* — Zeitschrift Für Tuberkulose, 4 mars 1932, **44**, n^{os} 1-2.
- GRUMBACH (A.). — *Contribution à la bactériologie du bacille de la tuberculose. 1^o Dangers des frottis colorés. 2^o Signification du passage chez l'animal dans la pratique des examens de laboratoire.* — Schweizerische Medizinische Wochenschrift, 21 mai 1932, **62**, n^o 2.
- GUALDI (A.). — *Contribution à l'étude de la bacillémie tuberculeuse dans les maladies anergisantes de l'enfance.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 956.
- HAACK (K.) et DELBANGO (E.). — *Remarques au sujet des constatations faites par Læwenstein sur les bacilles de la tuberculose dans le sang circulant.* — Wiener Klinische Wochenschrift, 18 novembre 1932, **45**, n^o 47.
- HAMBURGER (Fränz). — *La survenue de bacillemies tuberculeuses au cours de différentes maladies.* — Münchener med. Wochenschr., 20 mars 1931, n^o 12, p. 487-488.
- HAUDUROY. — *Discussion à la section d'études scientifiques de l'œuvre de la Tuberculose.* — Séance du 12 mars 1932, In. Revue de la Tuberculose 1932, **13**, p. 521.

- HARMS et MERKEL. — *Remarques sur la méthode de Lœwenstein pour la culture du bacille de la tuberculose à partir du sang.* — *Die Tuberkulose*, 10 octobre 1932, **12**, n° 10.
- HOHN (Joseph). — *Quatre ans d'expérience en ce qui concerne la valeur des cultures de bacilles tuberculeux pour le diagnostic de la tuberculose.* — *München. med. Wochenschr.*, 5 juillet 1927, n° 27, p. 1120-1125.
- *Münch. med. Wochenschr.*, 1926, p. 609. — *Münch. med. Wochenschr.*, 1926, **6**, n° 1.
- HOLM (Johs.) — *La constatation de la bacillémie tuberculeuse.* — *Acta Tuberculosea*, 1932, **6**, n° 1.
- HUTTIG (M.). — *La recherche des bacilles de la tuberculose dans le sang des tuberculeux.* — *Zeitschrift Für Tuberkulose*, septembre 1931, **62**, n° 1.
- IWO LOMINSKI. — *Nouveau milieu de culture pour la culture des bacilles tuberculeux : Pomme de terre au bouillon, à la cholestérine et à la lécithine.* — *C. R. Soc. de Biol.*, 1930, **105**, p. 601.
- JONTOSHOHN (Kurt). — *Essai de culture de bacille de la tuberculose à partir du sang de tuberculeux.* — *Zeitschrift Für Tuberkulose*, mai 1931, **61**, n° 1.
- JOSEPHSEN (Gebhardt). — *Contribution à l'éclaircissement de l'étiologie de l'érythème noueux.* — *Acta medica Scandinavica*, 28 mai 1932, **78**, n° 1.
- JOUSSET (A.). — *L'avenir des tuberculoses méningées.* — *Soc. méd. des Hôpitaux*, 24 juin 1932.
- KAHLMETER (M.) de Stockholm. — *Quelques essais de culture par le procédé de Lœwenstein de bacilles tuberculeux provenant du sang.* — *Com. du 3^e C. Intern. du Rhumatisme*, Paris, 13-15 octobre 1932.
- KALLOS (P.). — *A propos de la bacillémie tuberculeuse dans les tuberculoses cutanées.* — *Münchener med. Wochenschr.*, 6 novembre 1931, n° 45, p. 1901-1902.
- *La culture du bacille de la tuberculose dans le sang d'après Lœwenstein.* — *Zeitschrift Für Tuberkulose*, mai 1932, **64**, n° 5.
- KARWACKI. — *Culture du virus tuberculeux du liquide pleural dans les pleurésies tuberculeuses.* — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **92**, p. 374 et p. 801.
- KEMBES (B.). — *Cultures et inoculations aux animaux en vue de prouver l'existence de bacilles tuberculeux dans l'urine, les produits de ponction et le pus.* — *Deutsche med. Wochenschr.*, 16 novembre 1928, n° 46, p. 1919-20.
- KENNER (A.). — *Deux cas de bacillémie tuberculeuse dans*

- l'asthme bronchique.* — Wiener Klinische Wochenschrift, 5 juin 1931, **44**, n° 23.
- KISSMEYER et LÖWENSTEIN (E.). — *Sur la bacillémie tuberculeuse dans la tuberculose cutanée.* — Münchener med. Wochenschr., 15 avril 1932, n° 16, p. 626-627.
- KOCH (Franz). — *Bacillémie tuberculeuse dans la tuberculose cutanée ?* — Deutsche medizinische Wochenschrift, 15 janvier 1932, **78**, n° 3.
- KONRAD (Josef). — *Constatactions des bacilles de la tuberculose dans le sang circulant (méthode de Löwenstein) au cours de maladies cutanées.* — Wiener Klinische Wochenschrift, 1^{er} avril 1932, **45**, n° 14.
- KRAUSE (Karl). — *Sur la possibilité d'emploi de la culture des bacilles tuberculeux selon Hohn dans les dispensaires.* — Zeitschr. f. Tuberk. f. 3, 1929, **54**, p. 227-229.
- KREN (O.) et LÖWENSTEIN (E.). — *La pathogénèse de la tuberculose cutanée, de la tuberculide, ainsi que du lupus érythémateux.* — Wiener Klin. Woch. 131, n° 13.
- *Origine hématogène de certaines tuberculoses cutanées.* Klinische Wochenschr., 23 mai 1931, **10**, n° 21.
- *Sur l'origine hématogène de certaines tuberculoses cutanées.* — Klinik. Woch., 23 mai 1931, p. 974.
- LAIGNEL-LAVASTINE et BOQUIEN (Y.). — *Trois cas de rhumatisme tuberculeux, méthodes biologiques de diagnostic.* — Com. au III^e Congr. Inter. du Rhumatis., Paris, 13-15 octobre 1932.
- LANG (C.-A.). — *Contributo all'emocultura del bacillo tubercolare secondo il metodo Löwenstein.* — Sperimentale Arch. di Biol. 86, 1932, p. 31-50.
- LAYMON. — *Culture du bacille tuberculeux par la méthode de Löwenstein.* — Archives of dermatology and syphil, 1933, **28**, n° 1.
- LEDERMANN (K.-G.). — *Les types de bacilles tuberculeux (en cause) dans la tuberculose cutanée.* — Mediz. Klinik., 8 janvier 1932, p. 51-54 et 15 janvier 1932, n° 3, p. 82-85.
- LEGEZYSKI (S.) et OSTROWSKI (S.). — *Recherches sur l'hémoculture du bacille tuberculeux dans la tuberculose cutanée par la méthode de Löwenstein.* — Soc. de Biol. de Lwow, in C. R. de la Soc. de Biol., 1932, **111**, n° 40.
- LÉPINE (P.), MARKIANOS (J.) et PAPAYOANNOÛ (A.). — *Sur l'hémoculture du bacille de Hansen par la méthode de Löwenstein.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 845.
- LEVIN. — *Attempt to demonstrate tubercle bacilli in blood according to Löwenstein.* — Nordiskt med. Tidskrift, 1932, July 16, p. 496-500.

LICHTENSTERN (Robert). — *Bacillémie dans la tuberculose urogénitale.* — Münchener med. Wochenschr., 20 mars 1931, n° 12, p. 471-472.

LICHTENSTERN (Stefanio). — *La fréquence des bacilles de la tuberculose dans les œufs de poules.* — Zeitschrift Für Tuberk., avril 1932, **64**, n° 4.

LOEWENSTEIN (Ernst). — *Pour la préparation du milieu nutritif, consulter :* Deutsche Mediz. Woch., 1930, n° 24. — Zentralblatt fuer Bakteriologie, etc., 23 février 1931, 120, p. 127-129. — Klinische Woch., 23 mai 1931, p. 976.

— *L'importance clinique de la bacillémie tuberculeuse.* — II^e Congr. Inter. de Pédiatrie, Stockholm, 18-21 avril 1930, In Presse med., 1930, n° 78, p. 1314.

— *La survenue de la bacillémie au cours de différentes maladies.* — Münch. med. Wochenschr., 13 février 1931, n° 7, p. 261-263.

— *La tuberculose en tant qu'infection générale.* — Mediz. Klinik., 13 nov. 1931, n° 46, p. 1669-1670.

— *Bacillémie tuberculeuse dans les affections du système nerveux central.* — Münchener med. Wochenschr., 26 juin 1931, n° 26, p. 1080-1082.

— *Remarques sur la question de la bacillémie tuberculeuse.* — Zeitschrift Für Tuberk., 4 mars 1932, **64**, n° 1-2.

— *Méthode et signification clinique de la culture des bacilles tuberculeux à partir du sang.* — Mediz. Klinik., 16 octobre 1932, n° 51, p. 1782-1783.

— *La tuberculo-bacillémie vue par un bactériologiste.* — Le Monde médical, 15 janvier 1933, p. 33.

LOEWENSTEIN (E.), FANJUL (Luis) et GERZNER (M. U.-C. Léopold). — *Comparaison entre les résultats de la culture du bacille tuberculeux à partir du sang et ceux de la coloration directe du sédiment sanguin.* — Mediz. Klinik., 8 août 1932, **32**, p. 1106-1107.

LOEWENSTEIN (E.) et RUSSEFF. — *La culture pure de bacilles tuberculeux du sang.* — Wiener Klinis. Wochenschr., 6 mars 1930, **43**, n° 10.

MACCHIORO (G.). — *Sur la présence du bacille tuberculeux dans le sang circulant des tuberculeux.* — Riv. di pat. e clin. della tubercolosi, 31 octobre 1929, **3**, fasc. 10, p. 854.

MACH (R.-S.) et M^{me} MACH (E.). — *La bacillémie tuberculeuse et les travaux de Loewenstein.* — Rev. med. de la Suisse Romande, 25 nov. 1931, n° 13, p. 787-796.

— *Bacillémies tuberculeuses au cours d'infections aiguës*

- non tuberculeuses. — *Bacillémies tuberculeuses muettes secondes*. — Soc. Med. des hôpitaux de Paris, 25 novembre 1932.
- *Hémoculture de bacilles acido-résistants par la méthode de Læwenstein*. — C. R. Soc. de Biol., 1932, **109**, p. 722.
- MANSEAU. — C. R. Soc. de Biol., 1924, **91**, p. 225.
- MANTEUFEL (P.) et KOTTMANN (E.). — *Recherches sur la valeur diagnostique des hémocultures d'après Læwenstein au cours de la tuberculose expérimentale du cobaye*. — Münchener mediz. Wochenschr., 27 janvier 1933, n° 4, p. 126-127.
- MATHIESEN (Axel F.). — *Résultats de la méthode d'hémoculture de Læwenstein dans les diverses formes de tuberculose cutanée*. — Wiener Klinisc. Wochenschr., 3 juin 1932, **45**.
- MATRAS (August). — *La culture du bacille de la tuberc. d'après Læwenstein à partir des tissus dans les affections tuberculeuses*. — Wiener Klinisc. Wochens., 22 avril 1932, **45**, n° 17.
- MERLE (P.). — *Maladie de Hodgkin et tuberculose, tuberculination du cobaye par un ganglion lymphogranulomateux*. — Soc. med. des Hôpitaux, 21 juin 1929.
- MEYER (Kurt). — *A propos de la mise en évidence des bacilles tuberculeux dans le sang au cours de la tuberculose et d'autres affections*. — Mediz. Klinik ; 22 janvier 1932, n° 4, p. 110-112 ; 19 février 1932, n° 8, p. 252-256 ; 26 février 1932, n° 9, p. 289-292.
- MONCEAU (Y.). — *Essais d'étude de la bacillémie tuberculeuse chez l'enfant à l'aide de la méthode de Læwenstein*. — Thèse Paris 1932. Jouve et C^{ie}, éditeurs, Paris.
- MOURIZ (L.). — *Contribution au diagnostic bactériologique de la tuberculose*. — Klinische Wochenschr., 29 nov. 1930, **9**.
- MOZER (M. et G.). — *Etude bactériologique des exsudats tuberculeux ostéo-articulaires et ganglionnaires*. — Annales de l'Institut Pasteur, juin 1932.
- NANU (I.), JONNESCO (D.) et STEFANESCO (C.). — *Contribution au diagnostic de la bacillémie tuberculeuse par l'hémoculture selon la méthode de Læwenstein*. — Presse méd., 9 déc. 1931, n° 98, p. 1805.
- NEDELKOVITCH (Yevrem). — *Culture directe du Bacille tuberculeux des exsudats du pneumothorax*. — C. R. Soc. de Biol. 1929, **100**, p. 72 et p. 74.

- *Etude de certaines propriétés biologiques des exsudats et du bacille tuberculeux.* — Presse méd., 30 décembre 1931, n° 104, p. 1922.
- *Culture directe du Bacille de Koch dans les épanchements séro-fibrineux de pleurésie commune.* — C. R. Soc. de Biol. 1933, **113**, p. 434.
- NÈGRE (L.) et WEILL-HALLÉ (B.). — *Au sujet d'un bacille de Koch isolé d'un liquide céphalorachidien de méningite tuberculeuse.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 849.
- NINNI (C.). — *La culture indirecte pour déceler l'ultravirus tuberculeux.* — Soc. de Biol., 21 mars 1932.
- *Influence de la tuberculine sur la bacillémie tuberculeuse expérimentale.* — Soc. de Biol., 3 déc. 1932.
- *Aspect de l'infection bacillaire provoquée par l'ultravirus tuberculeux inoculé en série par voie lympho-ganglionnaire.* — C. R. de la Soc. de Biol., 1931, **107**, p. 984.
- NINNI (C.) et BRETEY (J.). — *Résultats de la recherche des bacilles acido-résistants dans les organes des cobayes par la culture des organes.* — Soc. de Biol., 21 janvier 1933.
- OPITZ (H.). — *La question de la tuberculose ouverte chez l'enfant.* — Deutsche med. Wochenschr., 21 déc. 1928, n° 51, p. 2139-2140.
- *La démonstration des bacilles tuberculeux par les cultures dans le sang circulant.* — Deutsche med. Wochenschr., 11 mars 1932, **58**, n° 11.
- ORKONOMOPOULO (N.-B.), PAPANIKOLAOU (B.) et JOANNIDES (G.). — *Recherches sur la bacillémie tuberculeuse en cas de tuberculose pulmonaire d'après la méthode de Löwenstein.* — Zeitschrift Für Tuberk., février 1932, **63**, n° 5.
- PAISSEAU (G.) et OUMANSKY (V.). — *Données actuelles sur le diagnostic bactériologique de la tuberculose.* — L'Avenir médical, janvier 1931.
- PAISSEAU (G.), VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — *Sur l'examen bactériologique des crachats de quelques enfants présentant une intradermoréaction dissociée au filtrat tuberculeux et à la tuberculine.* — C. R. Soc. de Biol., 1932, **110**, p. 508.
- PAISSEAU (G.), DUCAS (P.) et JEAN WEILL. — *Rhumatisme de Bouillaud et Tuberculose.* — Soc. méd. des Hôpitaux, 8 juillet 1932.
- PARAF. — Discussion à la Soc. méd. des Hôpitaux, 6 mai 1932.
- PARAF (J.) et ABAJA (A.). — *La bacillémie tuberculeuse et la méthode de Löwenstein.* — Revue critique de pathologie et de thérapeutique, sept. 1932.

- PETRAGNANI (G.). — *Sul Terreno al verde di malachite e sulla tecnica per l'isolamento dei bacilli tubercolari.* — Il Policlinico. Sez. Pratica, 1928, n° 27, p. 1295 et Boll. Istit. Sieroterap. 1928, f. 3.
- PETROFF et STENKEN. — Journal of exper. Med. 1930, **51**, p. 831.
- PHILIBERT (A.). — *La bacillémie tuberculeuse et la culture du sang.* — Gazette des hôpitaux, 11 mai 1932, n° 38, p. 701.
- PHILIBERT (A.) et MACH (R.). — *Etude d'une culture d'un bacille tuberculeux isolé du sang.* — C. R. Soc. de Biol. 1932, **109**, p. 720.
- PIASECKA-ZEYLAND. — *Contribution à l'étude de la méthode de culture des bacilles tuberculeux du sang d'après Lœwenstein.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 950.
- PIC (A.). — *Rhumatisme et Tuberculose. Evolution des idées depuis Poncet.* — Journal de médecine de Lyon, 20 avril 1932.
- PIC (A.) et DELORE (P.). — *Considérations cliniques sur le rhumatisme articulaire aigu tuberculeux.* — Journal de médecine de Lyon, 20 avril 1932.
- PIECHAUD et CHANTEGREIL. — *Le tubage gastrique, procédé de recherches du crachat tuberculeux dégluti par l'enfant.* — Journal médical français, avril 1932.
- POPPEL (Ludvig). — *La signification clinique de la constatation de bacilles de la tuberculose dans le sang.* — Deutsche mediz. Wochenschr., 15 janvier 1932, n° 3.
- PROCA (G.). — *Sur l'isolement du Bacille tuberculeux.* — C. R. Soc. de Biol., 1932, **110**, p. 652.
- PROCA (C.). — *Cultures symbiotiques du bacille tuberculeux.* — Soc. de Biol. de Bucarest, in C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, n° 1.
- POPPEL (Hans), BODART (Félix) et SCHINDLER (Wolfgang). — *La culture du bacille de la tuberculose du sang d'après Lœwenstein.* — Wiener Klin. Wochenschr., 27 novembre 1931, 44, n° 48.
- PUCA (A.). — C. R. Soc. de Biol., 1932, **111**, p. 258.
- *Premiers résultats de la culture du Bacille de Koch par ensemencement de liquides céphalorachidiens de déments précoces.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 359.
- PUCCA, FRAGOLA, CERRA et CASAVOLA. — 1^{re} séance scientifique de la Soc. médicale de la Calabre, 22 fév. 1932.
- RAVAUT (P.), VALTIS (J.) et NELIS. — *Résultats de l'inoculation au cobaye d'un Sarcoïde et d'une tuberculide papulo-lonécrotique.* — Soc. de Biol., 8 juin 1929.

- RAVAUT (P.), VALTIS (J.) et GUERRA. — *Tuberculoses granulaires de la peau d'origine sanguine et tuberculides*. — Presse méd., 7 octobre 1931.
- REITTER (C.). — *Le rôle de la tuberculose dans le rhumatisme articulaire aigu*. — Soc. des médéc., Vienne, 9 mars 1928, Mediz. Klinik, 17 août 1928, n° 33, p. 1293-1294.
- REITTER (Karl) et LÖWENSTEIN (E.). — *Présence de bacilles tuberculeux dans le sang de 3 personnes atteintes de rhumatisme articulaire aigu*. — Soc. des médecins de Vienne, séance du 2 mai 1930 ; Wiener med. Wochenschr., 10 mai 1930, n° 20, p. 665-667. — Mediz. Klinik, 26 septembre 1930, n° 39, p. 1465.
- *Rhumatisme articulaire aigu et bacillémie tuberculeuse*. — Münchener med. Wochenschr., 20 mars 1931, **78**, n° 12, p. 472-473.
- *Rhumatisme articulaire aigu et bacillémie tuberculeuse*. — Münch. med. Wochenschr., 27 novembre 1931, n° 48, p. 2033-2034.
- ROLOFF (Wilhem). — *Le procédé de culture de Hohn : un progrès dans la recherche des bacilles au cours de la tuberculose pulmonaire*. — Zeitschr. f. Tuberk., 1928, **52**, fasc. 2, p. 153-156.
- ROUILLARD (J.). — *Affections rhumatismales et Tuberculose*. — Presse médicale, 1928, n° 15, p. 228.
- SAENZ (A.). — *Valeur diagnostique de l'hémoculture chez les Tuberculeux*. — C. R. Soc. de Biol., 1931, **107**, p. 1455 et p. 1457.
- *L'hémoculture du bacille de Koch par la méthode de Löwenstein*. — La Médecine, 1932, n° 7.
- *Discussion à la Section d'Etudes Scientifiques de l'Œuvre de la Tuberculose*. — Séance du 12 mars 1932. — In Rev. de la Tuberc., 1932, **13**, p. 517.
- *Recherches sur la bacillémie tuberculeuse par la méthode de Löwenstein*. — Presse médicale, 23 juillet 1932.
- *Les méthodes de diagnostic bactériologique de la tuberculose et leur valeur clinique*. — Revue de Phtisiologie, 1933, **14**, n° 1, p. 20.
- *Sur la présence fréquente de bacilles acido-résistants saprophytes dans le sang ensemencé par la méthode de Löwenstein*. — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 434.
- SAENZ (A.), COSTE (F.) et COSTIL (L.). — *Sur l'extrême lenteur de l'évolution de la tuberculose chez les cobayes inoculés avec du sang ne contenant que quelques bacilles*. — Soc. de Biol., 17 décembre 1932.

- SAENZ (A.) et COSTIL (L.). — *Importance de la « microculture » pour le diagnostic précoce et la méningite tuberculeuse par l'ensemencement direct du liquide céphalo-rachidien.* — C. R. Soc. de Biol., 1932, **110**, p. 1189.
- *Importance de la « microculture » pour le diagnostic précoce de la tuberculose pulmonaire par l'ensemencement des crachats.* — Soc. de Biol., 3 déc. 1932.
- C. R. Soc. de Biol., 1932, **111**, p. 770.
- *Etude comparative des divers milieux à l'œuf pour l'isolement des bacilles tuberculeux.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 1302.
- *Procédé de recherche du Bacille de Koch dans les diverses fractions des caillots sanguins extraits du cœur des sujets morts de Tuberculose.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 1135.
- SAENZ (A.), CHEVALIER (P.), LÉVY-BRUHL (M.) et COSTIL (L.). — *Sur la présence du Bacille de Koch virulent dans les lésions cutanées et dans le sang d'une malade en plein accès d'erythème noueux.*
- SAENZ (A.) et EISENDRATH (D.). — *La « microculture » du virus tuberculeux et son importance pour le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines.* — Ann. Inst. Pasteur, novembre 1932, **49**, n° 5, p. 608-613.
- *La « microculture » et son importance dans le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines.* — Presse méd., 10 déc. 1932, n° 99, p. 1856.
- *La « microculture » et son importance dans le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines.* — C. R. Soc. de Biol., 1932, **109**, p. 1260.
- SAENZ (A.) et GUERRA (P.). — *Isolement d'un bacille du type aviaire des lésions et du sang d'un tuberculeux lupique.* — Soc. de Biol., 14 nov. 1931.
- SAENZ (A.) et SADETTIN (M.). — *Au sujet de l'action prétendue inhibitrice du sulfate de sodium sur les cultures de Bacille tuberculeux.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 245.
- DE SANCTIS MONALDI (E.). — *Influence d'une infection aiguë surajoutée sur la bacillémie tuberculeuse.* — Soc. de Biol., 4 juin 1932.
- *Discussion à la section d'études de l'œuvre de la tuberculose, séance du 11 juin 1932.* In Rev. Tub., 1932, **13**, p. 741.

- *Influence d'une infection aiguë surajoutée sur la bacillémie tuberculeuse.* — C. R. Soc. Biol., 1932, **110**, p. 378.
- SANCTIS-MONALDI (E. DE). — *La microleucocytoculture appliquée à l'étude de la bacillémie tuberculeuse.* — Soc. de Biol., 29 avril 1933.
- SCHLOSSMANN (C.). — *Recherche du bacille tuberculeux dans l'épanchement pleural.* — Bull. de l'Union internationale contre la Tuberculose, 1925, **2**, p. 3.
- SCHNIEDER (Ernst August). — *A propos des formes non acido-résistantes du bacille tuberculeux.* — Zeitschr. f. Tuberk., 1930, **58**, f. 4, p. 247-251.
- SCHOLTZ (Waltter). — *La signification de la recherche bactériologique dans le développement de la dermatologie.* — Deutsche mediz. Wochenschr., 13 mai 1932, **58**, n° 20.
- SCHOLTZ (H.). — *Sur la recherche des bacilles tuberculeux.* — Verein f. wissenschaftliche Heilkunde, Königsberg, séance du 26 novembre 1932, ; Mediz. Klinik., 1933, n° 5, p. 174.
- SCHREINER (K.). — *La question de la culture des bacilles de la tuberculose à partir du sang dans les dermatoses tuberculeuses.* — Wiener Klinis. Wochenschr., 15 avril 1932, **45**, n° 16.
- SCHULTE-TIGGES (H.). — *A propos de la valeur pratique de la culture des bacilles tuberculeux à partir des crachats.* — Zeitschr. f. Tuberk., 1929, **54**, p. 3, p. 230-233.
- *Expériences avec la culture de bacilles de la tuberculose dans l'urine d'après Hohn.* — Die Tuberk., 10 juillet 1932, **12**, n° 7.
- SELTNER et FELZER (R.-E.). — *Découverte de bacilles tuberculeux dans le sang circulant et dans les organes par la méthode de Löwenstein.* — Niederrheinische Gesellsch. f. Natur — und Heilkunde, Bonn, séance du 16 janvier 1933 ; Mediz. Klinik., 24 mars 1933, n° 13, p. 441-442.
- SERGEANT (E.). — *La bacillémie tuberculeuse et les bacilles de Koch « de sortie » vus par un clinicien.* — Le Monde Médical, 1^{er} octobre 1932.
- *Réactivation des foyers tuberculeux latents et bacilles de Koch « de sortie ».* — Discussion : Léon Bernard. Bull. Académie de méd., 1932, n° 21.
- Bull. de l'Académie de méd., 31 mai 1932.
- SERGEANT (E.), DURAND (H.), GASPARD (I.) et MARCOUX (H.). — *La bacillémie tuberculeuse étudiée par l'hémoculture selon la méthode de Löwenstein.* — Soc. de Biol., 17 déc. 1932,

- SERGEANT, DURAND, IMBERT, MORICARD et GASPARD. — *Endocardite lente, Bacillémie terminale et tuberculose des séreuses.* — Œuvre de la Tuberculose, Sect. d'études scientifiques, 11 juin 1932.
- SERGEANT (E.), IMBERT et MORICARD. — *Endocardite lente, bacillémie terminale et tuberculose des séreuses.* — Rev. de la Tub., 1932, **13**, p. 736.
- TOULOUSE, VALTIS, SCHIFF et VAN DEINSE. — Ann. méd. psychol., 1932, p. 474.
- TROISIER (J.) et SANCTIS MONALDI (E. DE). — *Bacillémie tuberculeuse au cours d'infections aiguës non tuberculeuses.* — Annales de l'Institut Pasteur, novembre 1932, n° 5, p. 614.
- *Le bacille de Koch virus de sortie.* — Discussion : M. Netter, Bull. de l'Acad. de méd., 1932, n° 17.
- TROISIER (Jean), SANCTIS MONALDI (E. de), CATTAN (R.) et KOURILSKY (M^{me}). — *Bacillémie tuberculeuse au cours d'infections aiguës non tuberculeuses. Le bacille de Koch virus de sortie.* — Presse méd., 30 novembre 1932, n° 96, p. 1799.
- UNVERRICHT et DOSQUET (S.). — *Culture directe du bacille de la tuberculose à partir du sang d'après la méthode de Læwenstein.* — Zeitschrift f. Tuberk., février 1932, **63**, n° 5.
- VALTIS (J.). — *Les éléments filtrables du bacille de Koch (ultra-virus tuberculeux).* — Rec. méd. française, juin 1932.
- VALTIS (J.), PAISSEAU (G.) et VAN DEINSE (F.). — *Présence du virus tuberculeux dans le sang circulant d'un enfant atteint d'endocardite rhumatismale.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **112**, p. 742.
- *Sur deux types différents de bacilles paratuberculeux isolés de l'expectoration d'un enfant atteint de lésions pulmonaires tuberculeuses.* — Soc. de Biol., 15 octobre 1932.
- VANDESTRATE (M.). — *Essais de culture de bacilles tuberculeux en suspension dans la bile.* — Soc. de Biol., 15 octobre 1932.
- VEBER (Th.). — *Sur la culture du bacille tuberculeux des pleurésies du pneumothorax thérapeutique.* — C. R. Soc. de Biol., 1926, **95**, p. 264.
- WALYER (L.) et HORING (F.-O.). — *A propos de la mise en évidence de bacilles de Koch dans le sang selon (la méthode) Læwenstein.* — Mediz. Klinik., 13 mai 1932, n° 20, p. 688-689.

- WANG (L.). — *Sur la valeur des milieux de Sweany et Cranoff pour la culture du bacille de Koch.* — Soc. de Biol., 15 nov. 1932.
- WARNERY (M.). — *Sur la résistance des bacilles tuberculeux à l'acide sulfurique suivant l'âge des cultures.* — Soc. de Biol., 12 nov. 1932.
- *Isolement du Bacille tuberculeux sur le milieu de Lœwenstein après traitement à l'antiformine.* — C. R. Soc. de Biol., 1933, **113**, p. 311.
- WEATHERAIL (C.). — *Bacille tuberculeux dans le torrent circulatoire chez l'homme et chez l'animal tuberculeux.* — Lancet, 1932, **222**, p. 980.
- WEISSENBACH et DURUPT. — *L'hémoculture par la méthode de Lœwenstein dans le rhumatisme chronique progressif tuberculeux.* — Com. au 3^e C. du Rhum., Paris, 13-15 octobre 1932.
- WEISSENBACH (R.) et DURUPT (A.). — *L'hémoculture par la méthode de Lœwenstein dans le rhumatisme chronique progressif tuberculeux.* — Le Bulletin Méd., 12 nov. 1932.
- WESSELEY et LÖEWENSTEIN. — *Présentation à la Soc. méd. des Hôpitaux de Vienne.* — Wiener Klin. Woch., 1930, n° 36, p. 827.
- WINGE (Knud). — *La recherche clinique du bacille de la tuberculose par culture sur milieu et par inoculation à l'animal.* — Acta Tuberculosea Scandinavica, 1929, **5**, n° 1.
- ZANNELLI (C.). — *Bacillémie tuberculeuse.* — Lotta contro la tubercolosi anno 3, avril 1932, n° 4, p. 403.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.	1
LES MILIEUX A L'ŒUF.....	6
PRÉPARATION DES PRINCIPAUX-MILIEUX A L'ŒUF.....	10
Milieu de Lœwenstein 1932.....	10
Milieu de Lœwenstein 1933.....	12
Milieu de Hohn.....	12
Milieu de Petraghini.....	13
Milieu de Petraghini modifié.....	14
Milieu de Bergeron.....	14
VALEUR DES MILIEUX A L'ŒUF.....	16
Valeur comparée des différents milieux.....	20
CULTURE DU BACILLE DE KOCH DES CRACHATS.....	23
Traitement préalable.....	26
Ensemencement.	28
Expériences et résultats.....	29
Conclusions.	38
CULTURE DU PUS.....	39
CULTURE DES URINES TUBERCULEUSES.....	41
Technique.	42
Expériences.	42
Avantages de la culture des urines sur les milieux à l'œuf.....	48
CULTURE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN.....	50
CULTURE DES ÉPANCHEMENTS TUBERCULEUX.....	52
Supériorité des milieux à l'œuf pour la culture des épancements tuberculeux.....	58
Supériorité sur l'examen direct et l'inoculation au cobaye.	61
Conclusion.	62

CULTURE DU SANG.....	63
Technique de Lœwenstein.....	64
Résultats obtenus par Lœwenstein.....	64
Résultats obtenus par les auteurs non Viennois.....	69
Divergence des résultats obtenus.....	74
Interprétation des résultats obtenus. La notion de « virus de sortie ».....	81
Conclusion. . .	84
CONCLUSIONS. . .	85
BIBLIOGRAPHIE. . .	87

IMP. SOCIÉTÉ DES JOURNAUX ET PUBLICATIONS DU CENTRE, LIMOGES-3-34
